

Список літератури

1. Бородин, О.В. Разработка инактивированной эмульсионной вакцины против пастереллеза птиц. – дисс.канд.биол. наук: 03.00.07, 03.00.23. – Ульяновск, 2005. – 121 с. 2. Назаров, Шамсулло Химатович. Лечебно-профилактическая эффективность препарата САП-2 при пастереллезе птиц: диссертация ... кандидата ветеринарных наук : 16.00.03 – Душанбе, 2004. – 111 с. 3. Рождественская, Т.Н. Метод контроля бактериальной инфицированности птиц / Борисенкова А.Н., Рождественская Т.Н., Новикова О.Б., Чавгун В.А. // РацВетИнформ. – 2004. – № 10. – С. 6-7. 4. Hall, W.J., Heddleston, K.L., Legenhause, D.H. et al. 1955. Studies on Pastererellosis: I. A new species of Pasterella encountered in chronic fowl cholerae. Am. J. Vet. Res. 16:598-604

EFFICIENCY OF APPLICATION OF SUBUNIT VACCINE AGAINST AVIAN PASTEURELLOSIS

Bila N.V.

Dnipropetrovs'k Research Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

The optimal level of antibody formation to Pasteurella multocida is got at application of subunit vaccine against pasteurellosis in the dose of 0,5 cm³. Productive approbation of subunit vaccine against avian pasteurellosis at double introduction with an interval a 10 days provides the expressed defense in default of negative influence on an organism.

УДК 619:616.98:579.873.21

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТУБЕРКУЛІНУ СУХОГО ОЧИЩЕНОГО (ППД) ДЛЯ ССАВЦІВ

Білушко В.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Важливим етапом контролювання якості виготовлення туберкуліну є визначення біологічної активності. Міжнародні або національні стандарти біологічних препаратів застосовуються в тих випадках, коли неможливо отримати вичерпної інформації щодо якості цих речовин за допомогою хімічних і фізичних методів або ці методи є недоступними через їх дорожнечу. У такому разі придатність препаратів перевіряється за допомогою біологічних тест-систем, за допомогою яких здійснюється оцінка дослідного препарату в порівнянні зі стандартом встановленої активності [1, 2].

Щодо діагностичних мікобактеріальних біопрепаратів, які застосовуються для виявлення хворих на туберкульоз тварин, то як основний контроль, за вимогами МЕБ передбачається тест на розвиток у тварин реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГЧСТ) при внутрішньошкірному введенні туберкуліну. Однією з головних характеристик якості туберкуліну є біологічна активність, що умовно визначається в міжнародних одиницях дії (МО). Активність визначається порівнянням дослідних зразків туберкуліну з міжнародним стандартом або з національним стандартом, відкаліброваним відносно міжнародного стандарту [3].

Уперше в світі міжнародний стандарт, спочатку для АТК (альтутуберкуліну Коха) був виготовлений у Лондоні і затверджений в 1928 році Організацією охорони здоров'я при Лізі Націй. Біологічна активність цього препарату становила 100 000 IU (International Unit) в 1,0 см³ алергену. У подальшому, другий і третій міжнародні стандарти для АТК були виготовлені в Копенгагені (Данія) у 1935 і 1965 рр.

Застосування ППД-туберкуліну, як діагностичного препарату, вимагало створення міжнародного стандарту цього препарату. За основу було взято серію туберкуліну, що виготовлена Seibert у 1940 р. з мікобактерій збудника туберкульозу виду *M. tuberculosis* шляхом хімічного осадження білка за допомогою сульфату амонію. Стандарт PPD-S був затверджений в 1951 році. За одиницю активності (туберкулінову одиницю – ТО, у подальшому – міжнародну одиницю (IU)) стандарту прийнято 0,000028 мг активної речовини. Цей стандарт туберкуліну виготовляють в ампулах, які містять по 500 000 IU (10,0 мг PPD і 4,0 мг % буферних солей) [4].

Основною вимогою для стандартизації туберкуліну є біологічна реакція, інтенсивність якої залежить від кількості активної субстанції, що застосована для цього [3, 5].

Національний інститут біологічних стандартів і контролю (NIBSC) у м. Вейбриджі (Великобританія) забезпечує для калібровки національних зразків діагностичних препаратів міжнародними стандартами інші країни, в тому числі й туберкуліном очищеним (ППД) для ссавців [6, 7].

В Україні, для проведення стандартизації туберкуліну для ссавців, використовують спеціально відібрану серію рідкого «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині», яку виготовляють за технологією, розробленою ННЦ «ІЕКВМ» на Державній Сумській біологічній фабриці [8]. У зв'язку з цим, з метою отримання власного національного стандарту туберкуліну для ссавців з більш стабільними властивостями в ННЦ «ІЕКВМ» розроблено технологію виготовлення сухого (ліофілізованого) ППД-туберкуліну для ссавців, який зберігає біологічну активність і специфічність впродовж значно більшого терміну (4-5 років) ніж туберкулін, що виготовляється у стандартному розчині (2 роки). Тому метою даної роботи було дослідження діагностичної ефективності виготовлених серій туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців.

Матеріали та методи. Дослідження діагностичної ефективності 3-х дослідно-виробничих серій (С-1, С-2, С-3) «Туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців», виготовленого за технологією, розробленою ННЦ «ІЕКВМ», в умовах Державної Сумської біологічної фабрики проведені на клінічно здоровій великій рогатій худобі (бички віком 8-12 міс., масою 180-250 кг (Усього 35 голів)) у благополучному щодо туберкульозу тварин господарстві.

Вивчення біологічної активності проводили на 20-ти клінічно здорових, не реагуючих на туберкулін для ссавців, бичках, що раніше не використовувались в досліді і попередньо (за 30 діб) сенсibilізованих зависсю живої культури вакцинного штаму BCG (гомолігична система) у дозі 5,0 мг бактеріальної маси в 1,0 см³ стерильного ізотонічного розчину. Реактогенність вивчали на 15-ти клінічно здорових бичках, яким не вводили культуру вакцинного штаму BCG. Біологічну активність і реактогенність виготовлених серій алергену порівнювали з контрольною серією Національного стандарту України «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині» – серія № 5.

Алергени вводили внутрішньошкірно в депільовані й оброблені 70%-им етиловим спиртом ділянки шкіри в області середньої третини шиї за допомогою ін'єктору «БІ-7» у дозі 5000 МО в об'ємі 0,1 см³: з лівої сторони – на відстані 10-15 см між місцями введення – три дослідні серії туберкуліну, а з правої сторони – контрольну серію № 5 (національний стандарт). Облік алергічних реакцій у тварин проводили через 72 години після введення алергенів шляхом визначення величини потовщення шкіри в місці ін'єкції препарату.

Маніпуляції з тваринами проводили керуючись принципами біоетики.

Результати досліджень. Результати визначення біологічної активності дослідно-виробничих серій туберкуліну на великій рогатій худобі наведені в таблиці 1.

Таблиця Результати прояву інтенсивності алергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби, сенсibilізованої культурою вакцинного штаму BCG

№	Інв. № тварин	Потовщення шкіри у тварин через 72 год. після введення туберкуліну, мм				Наявність більшої (+), меншої (-) або однакової (=) реакції на дослідну серію туберкуліну ніж на контрольну		
		Дослідно-виробничі серії туберкуліну			Контроль С5	С-1	С-2	С-3
		С-1	С-2	С-3				
1	2908	14 (7×21)	15 (7×22)	18 (7×25)	18 (7×25)	-	-	=
2	8740	16 (7×23)	15 (7×22)	20 (7×27)	12 (7×19)	+	+	+
3	8965	4 (9×13)	14 (9×13)	8 (9×17)	5 (9×14)	-	-	+
4	2510	16 (11×27)	22 (11×33)	19 (11×30)	16 (11×27)	=	+	+
5	2577	16 (10×26)	17 (10×27)	15 (10×25)	8 (10×18)	+	+	+
6	2906	23 (7×30)	28 (7×35)	24 (7×31)	18 (7×25)	+	+	+
7	2415	16 (9×25)	12 (9×21)	8 (9×17)	12 (9×21)	+	=	-
8	2518	17 (9×26)	17 (9×26)	24 (9×33)	10 (9×19)	+	+	+
9	2560	8 (6×14)	13 (6×19)	14 (6×20)	9 (6×15)	-	+	+
10	8813	10 (9×19)	7 (9×16)	4 (9×13)	7 (9×16)	+	=	-
11	2501	8 (6×14)	9 (6×15)	8 (6×14)	7 (6×13)	+	+	+
12	2886	15 (5×20)	26 (5×31)	16 (5×21)	14 (5×19)	+	+	+
13	2413	13 (7×20)	12 (7×19)	10 (7×17)	14 (7×21)	-	-	-
14	5722	13 (7×20)	15 (7×22)	10 (7×17)	15 (7×22)	-	=	-
15	8736	14 (9×23)	13 (9×22)	10 (9×19)	13 (9×22)	+	=	-
16	7983	12 (9×21)	12 (9×21)	11 (9×20)	16 (9×25)	-	-	-
17	1508	10 (9×19)	6 (9×15)	12 (9×21)	9 (9×18)	+	-	+
18	1198	6 (10×16)	8 (10×18)	10 (10×20)	10 (10×20)	-	-	=
19	9361	8 (9×17)	7 (9×16)	10 (9×19)	7 (9×16)	+	=	+
20	2876	15 (7×22)	14 (7×21)	13 (7×20)	13 (7×20)	+	+	=
Σ		254	280	264	233			
M ± m		12,7 ± 0,95	14 ± 1,0	13,2 ± 1,0	11,7 ± 0,65			

Примітка: вірогідність результатів визначення біологічної активності дослідно-виробничих серій сухого очищеного туберкуліну (ППД) для ссавців становить 95-97,5 %.

Як видно з наведеної таблиці 1, алергічні реакції у бичків, сенсibilізованих живою культурою вакцинного штаму BCG, були неоднаковими. Так, максимальний розмір потовщення складки шкіри у тварин через 72 год. після введення першої дослідної серії туберкуліну (С-1) складає 23 мм, а мінімальний – 4 мм (табл.). Середнє значення, при цьому, становить (12,7 ± 0,95) мм. Відповідні параметри щодо другої та третьої дослідних серій (С-2, С-3) становлять 28 мм і 6 мм: у середньому – (14 ± 1,0) мм та 24 мм і 4 мм: середній показник – (13,2 ± 1,0) мм.

У сумарному відношенні величина потовщення складки шкіри (Σ) після введення алергенів на серію № 1 становила 254 мм, на серію № 2 – 280 мм, на серію № 3 – 264 мм, а на контрольну серію туберкуліну в стандартному розчині (С5) – 233 мм (M ± m = 11,7 ± 0,65).

Проте, слід зазначити, що при статистичній обробці отриманих результатів за методом критерію знаків (табл. 1) вірогідної різниці, яка свідчила б про переважність однієї з серій туберкуліну над іншою не встановлено, що свідчить про відповідність якості туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців чинному національному стандарту України для цього алергену [5].

Реактогенність кожної серії визначали на 15-ти бичках, яким також з лівого боку вводили дослідні серії туберкуліну, а з правого боку – контрольну серію. Через 72 години на місці введення туберкулінів прояву алергічних і запальних реакцій не було, що вірогідно свідчить про неореактогенність дослідних серій туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців.

Висновок. За результатами проведених виробничих випробувань встановлено, що туберкулін сухий очищений (ППД) для ссавців є біологічно активним і неореактогенним препаратом, який може використовуватись, як національний стандарт України при проведенні контролю якості комерційних біофабричних серій туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині.

Список літератури

1. Диагностические и лечебные аллергены. – М.: Медицина, 1990. – 256 с. 2. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика [Текст] / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Издат. «Высшая школа», 1973. – 320 с. 3. Яблокова, Т. Б. Характеристика препаратов для диагностики туберкулеза и микобактериозов [Текст] / Т. Б. Яблокова // Пробл. туберкулеза, М.: «Медицина», 1972. – № 5. – С. 72-76. 4. Козлов, В. Е. Оценка активности национального стандарта туберкулина (ППД) для млекопитающих относительно 1-го международного стандарта туберкулина (PPD) bovine [Текст] / В. Е. Козлов, В. М. Безгин, К. В. Шумилов // Вет. патология «Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных», Научно-практич. журн. по фундаментальным и прикладным вопросам ветеринарии. М.: 2004. – № 1-2 (9). – С. 85-89. 5. Устинович, А. Т. Применение математической статистики при обработке экспериментальных данных в ветеринарии [Текст] / А. Т. Устинович, П. Т. Лебедев // Зап.-Сибирское отд., 1970. – 42 с. 6. OIE Manual of standards for diagnostic test and vaccines / 2004.1. 7. Козлов, В. Е. Аллергены для диагностики туберкулеза. Совершенствование производства и стандартизация [Текст] : автореф. дис. д-ра вет. наук / В. Е. Козлов; [ВИЭВ]. – М., 2007. – 32 с. 8. ППД-туберкулин для ссавцев производства Сумської біофабрики [Текст] / А.І. Завгородній [та ін.] // «Ветеринарна медицина України». – 2006. – № 1. – С. 34-35.

RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE TUBERCULIN DRY PURIFIED (PPD) FOR MAMMALIANS

Bilushko V.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

Results of study in experiments on the cattle of basic indexes of diagnostic efficiency, made in biofactory terms, three series of dry tuberculin (PPD) for mammals are presented in the article.

УДК 619:616.476-097.3:615.371:636.5

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЖИВЫХ И ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ БОЛЕЗНИ ГАМБОРО

Громов И.Н., Герман С.П., Парханович С.И., Щур Е.А., Моргунов Н.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

Болезнь Гамборо получила в последние годы широкое распространение во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь. Данная болезнь представляет серьезную опасность в связи с выраженным иммунодепрессивным действием вируса, поражающего бурсу Фабрициуса птиц [4]. В комплексе мероприятий по профилактике и ликвидации болезни Гамборо основное место уделяется проведению вакцинаций [2]. При этом иммунологические реакции у птиц, вакцинированных против болезни Гамборо, изучены недостаточно. Ряд исследователей [1, 3] указывает на то, что используемые для пероральной иммунизации цыплят против болезни Гамборо вирус-вакцины могут вызывать иммунодепрессию, обусловленную явлениями делимфатизации и атрофии лимфоидной ткани в органах иммунной системы птиц. В последние годы при профилактике болезни птиц предпочтение отдают комбинированным вакцинам, так как применение одной дозы препарата против двух или даже нескольких инфекций значительно снижает затраты труда и потери от стрессовых ситуаций у птицы, которые обусловлены вакцинацией. Вместе с тем, остаются неизученными закономерности формирования иммунного ответа у птиц в условиях разной антигенной нагрузки.

Целью наших исследований было изучение иммунологической эффективности применения ряда живых и инактивированных ассоциированных эмульсин-вакцин против болезни Гамборо.

Материалы и методы. Исследования были проведены в серии из 3 опытов. Во 1 опыте нами были изучены иммунные реакции у молодня кур, вакцинированных против болезни Гамборо жидкой инактивированной эмульсин-вакциной, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси. Для проведения исследований было отобрано 400 птиц 130-158-суточного возраста. Вся птица была разделена на 2 группы (по 200 птиц в каждой). Молодняк кур 1 группы иммунизировали эмульсин-вакциной против болезни Гамборо. Вакцину вводили согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в дозе 0,5 мл. Интактная птица второй группы служила контролем. За день до вакцинации (фон), а также на 30 и 60 сутки после иммунизации от 20 птиц из каждой группы отбирали кровь и инкубационные яйца для выявления специфических антител к вирусу болезни Гамборо в РНГА.

Во втором опыте была изучена сравнительная морфологическая и экономическая эффективность пероральной иммунизации цыплят против болезни Гамборо сухими живыми вирус-вакцинами из шт. «Винтерфильд 2512» (ФГУ ВНИИЗЖ) и «КБК» (ООО «Биовет»). Исследования проведены на 3000 цыплятах, разделенных на 3 группы, по 1000 цыплят в каждой. Цыплят первой группы иммунизировали вирус-вакциной из штамма «КБК» (ООО «Биовет», Россия), согласно Наставлению по применению вакцины, двукратно, перорально в 10- и 20-суточном возрасте. Птиц второй группы иммунизировали вирус-вакциной из штамма «Винтерфильд 2512» (ФГУ ВНИИЗЖ, Россия). Цыплят иммунизировали согласно Наставлению по ее применению, перорально двукратно в 10- и 20-суточном возрасте. Интактные цыплята третьей группы служили контролем.

На 15-ые сутки первой и 15-ые сутки после второй вакцинации по 4-5 цыплят из каждой группы забивали для морфологических исследований. В 42-дневном возрасте (т.е. на 22 сутки после второй вакцинации) от цыплят опытной и контрольной групп отбирали пробы плазмы крови для контроля поствакцинального иммунитета против болезни Гамборо в ИФА (в разведении 1:500).

В третьем опыте мы изучили сравнительную иммунологическую и экономическую эффективность парентеральной комбинированной и раздельной вакцинации цыплят против болезни Гамборо и болезни Марека. В опыте было использовано 48000 цыплят-аналогов суточного возраста, разделенных на 2 группы по 24000 птиц в каждой. Цыплята первой группы в суточном возрасте подвергались одновременной иммунизации вирус-вакциной против болезни Гамборо из штамма «КБК» (ООО «Биовет», Россия) и вирус-вакциной против болезни Марека «Нобилис Рисмавак + СА 126» из апатогенного штамма «CVI-988» вируса герпеса цыплят и апатогенного штамма «FC-126» герпесвируса индеек («Интервет Интернэшнл БВ», Нидерланды). Цыплятам 2 группы в суточном возрасте, указанные биопрепараты вводили раздельно. В день проведения вакцинации (фон), а также в 60-суточном возрасте от цыплят 1 и 2 групп отбирали пробы плазмы крови для выявления специфических антител к вирусам болезни Гамборо (в ИФА) и БМ (в РИД).

Для проведения морфологических исследований в первом и третьем опытах от птиц отбирали пробы крови, пунктат костного мозга, а также кусочки ткани с места введения вакцины (при парентеральном применении), тимуса, бursy Фабрициуса, селезенки, дивертикула Меккеля, пищеводной и слепки кишечника миндалин. Расчет экономической эффективности ветеринарных мероприятий проводили с учетом учебно-методического пособия «Определение экономической эффективности мероприятий в ветеринарной медицине» [5], утвержденного ГУВ МСХ и ПРБ 12.05.2009 г. (приказ № 10-1-5/802).

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. В первом опыте исследования показали, что под влиянием инактивированной эмульсин-вакцины против болезни Гамборо, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси, в организме птиц развиваются выраженные системные морфологические изменения, сопровождающиеся гиперплазией клеток псевдозоинофильного и эозинофильного рядов, увеличением на 15 % общего числа гранулоцитов, на 24 % тромбоцитов и повышением в 1,5 раза лейкоэритробластического индекса в костном мозге; увеличением в 1,8-2,3 раза органомерических показателей и в 2 раза размеров коркового вещества долек тимуса; возрастанием в 2,3 раза абсолютной массы, удельных объемов лимфоидной ткани, расширением в 2,7 раза корковой зоны лимфоидных узелков фабрициевой бursy; возрастанием в 1,6-2 раза макроморфометрических показателей и в 1,9 раза числа лимфоидных узелков в селезенке; усилением в 1,5-2,6 раза бласттрансформации лимфоцитов и в 1,3-2,2 раза плазмочитарной реакции в ткани на месте введения вакцины; бурсе Фабрициуса, селезенке и слепки кишечника миндалин, лимфоидно-макрофагальной инфильтрацией с появлением лимфоидных узелков в ткани на месте введения вакцины, тромбоцитозом, лимфоцитозом. Кроме того, применение указанной вакцины обеспечивает достоверное повышение уровня специфических антител в 1,6-2,6 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует о создании достаточно напряженного поствакцинального иммунитета против данной болезни.