

Лысенко А.П., Максимович В.В., Притыченко А.Н., Лемшиш А.П., Юдасин А.М., Архипов И.Н., Шашкова Ю.А.

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского НАН Беларуси», г. Минск
УО «ВГАВМ», г. Витебск
УП «Витебская биофабрика», г. Витебск

АКТИВНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ТУБЕРКУЛИНА ОЧИЩЕННОГО В СРАВНЕНИИ С PPD BOVINE И ППД ТУБЕРКУЛИНОМ ДЛЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Проведены сравнительные испытания PPD tuberculina mamifera AN5, Rosenbusch, Argentina, 3412487 H, SENASA 121 12/06 ELAB, ППД туберкулина для млекопитающих Курской биофабрики и туберкулина очищенного УП «Витебская биофабрика» на крупном рогатом скоте сенсибилизированном M.bovis Vallee, M.bovis BCG-1, M.avium 1603, M.terrae 17522, M.fortuitum 342, а также на 984 коровах из хозяйства Гомельской области.

Установлено, что контрольная серия туберкулина очищенного в дозе 10000МЕ соответствует по активности PPD bovine в дозе 2000МЕ Первого международного стандарта (NIBSC Вейбридж, Великобритания, 1986г.).

Производственные серии туберкулина очищенного в диагностической дозе на крупном рогатом скоте, сенсибилизированном возбудителем туберкулеза, достоверно не отличаются по активности от ППД туберкулинов зарубежного производства.

Подтверждено, что туберкулин очищенный более специфичен, чем ППД туберкулины, поэтому в благополучных стадах на него реагирует меньше животных.

Comparative tests PPD tuberculina mamifera AN5, Rosenbusch, Argentina, 3412487 H, SENASA 12112/06 ELAB, PPD for mammalia (Kursk biofactory) and tuberculin purified (Vitebsk biofactory) on cattle sensitized M.bovis Vallee, M.bovis BCG-1, M.avium 1603, M.terrae 17522, M.fortuitum 342, and also on 984 cows from facilities of the Gornel area are carried out.

It is established, that a control series tuberculin purified in a doze 10000TU corresponds on activity PPD bovine in a doze 2000IU the First international standard.

Batches tuberculin purified in a diagnostic doze on cattle authentically do not differ on activity from PPD tuberculins foreign manufacture.

It is confirmed, that tuberculin purified is more specific, than PPD tuberculins, therefore in safe herds on it reacts less than animals.

Стандартизация туберкулинов представляет значительные трудности. Считается, что сравниваемый препарат должен соответствовать референс-препарату по способу получения и химическому составу (ОIE Manual, 2000).

На УП «Витебская биофабрика» в 2003 г. освоено производство нового диагностикума «туберкулина очищенного для млекопитающих», для очистки которого применяется ультрафильтрация, а не осаждение туберкулопротеинов трихлоруксусной кислотой и сульфатом аммония, как при получении ППД туберкулинов. Учитывая эту особенность, стандартизация туберкулина очищенного для млекопитающих, усложнена из-за отсутствия соответствующего стандарта. Тем не менее, это не исключает сравнения диагностической ценности нового препарата и ППД туберкулинов. Целесообразно проводить такие исследования на крупном рогатом скоте с заведомо известным статусом по туберкулезу, в частности, экспериментально сенсибилизированном возбудителем туберкулеза и атипичными микобактериями, что позволяет правильно интерпретировать результаты полевых испытаний.

В работе использовали:

- ППД туберкулин (PPD tuberculina mamifera AN5, Rosenbusch, Argentina, 3412487 H, SENASA 121 12/06 ELAB), стандартизированный в референс-лаборатории Dilacot-Senasa экспертом ОIЕ А.Вернадели в сравнении с Первым международным стандартом PPD bovine, (NIBSC Вейбридж, Великобритания);

- стандартный раствор ППД туберкулина для млекопитающих серии 11 Курской биофабрики, временно являющийся контрольным препаратом для оценки активности при производстве туберкулина очищенного на УП «Витебская биофабрика»;

- туберкулин очищенный УП «Витебская биофабрика» контрольной серии 20 и серий 24, 29, 31, 33, 37, стандартизированных относительно серии 20.

Исследования были проведены на молодняке крупного рогатого скота сенсibilизированного путем подкожного введения:

- бактериальной массы *M. bovis* Vallee, инактивированной фенолом (6 голов, 13 мг на голову);

- живой бактериальной массы *M. bovis* BCG-1 (6 голов, 10 мг на голову);

- смеси живой бактериальной массы *M. avium* 1603, *M. terrae* 17522, *M. fortuitum* 342 (6 голов, по 15 мг на голову);

- на 984 коровах 4 стад из хозяйств Гомельской области.

Препараты вводили безыгольными инъекторами в объеме 0,2 мл. Реакцию учитывали через 72 ч. путем измерения кожной складки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение активности туберкулина очищенного контрольной серии 20 в сравнении с ППД туберкулином, стандартизированным по Первому международному стандарту PPD bovine (NIBSC Вейбридж, Великобритания, 1986 г.)

В соответствии с OIE Manual (2000) справа в области шеи в первую и вторую точку на расстоянии 12-15 см внутрикожно вводили PPD tuberculina mamifera AN5, Rosenbusch в дозе 0.1 mg и 0.02 mg (в 0,2 мл растворителя для микобактериальных антигенов). Слева в симметричные места вводили контрольную серию (№20) туберкулина очищенного в диагностической дозе 0,2 мл (10000ME) и 0,2 мл (2000ME). Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Активность туберкулина очищенного контрольной серии 20 в сравнении с ППД туберкулином, стандартизированным по Первому международному стандарту PPD bovine

Номер животного	Утолщения кожной складки в мм				Интенсивность реакций на 1 дозу	Интенсивность реакций на 2 дозу
	PPD tuberculina mamifera AN5, 0,1 мг	PPD tuberculina mamifera AN5, 0,02 мг	Туберкулин очищ. с.20 10000ME	Туберкулин очищ. с.20 2000ME		
Сенсibilизированные живым штаммом <i>M. bovis</i> BCG-1						
9705	14	11	19	10	+	-
9481	8	5	11	8	+	+
7287	3	2	5	4	+	+
Сенсibilизированные инактивированным штаммом <i>M. bovis</i> Vallee						
С-ль	13	8	7	4	-	-
Ш-ф	7	2	5	2	-	=

Как видно из таблицы 1, на диагностические дозы сравниваемых туберкулинов (1 доза) реакции отмечены у всех сенсibilизированных животных. В 3 случаях из 5 они были интенсивнее на препарат Витебской биофабрики. На 5-кратно разведенный PPD tuberculina mamifera AN5 (2 доза) реагировало 3 из 5 животных, на соответствующее разведение контрольной серии туберкулина очищенного серии 20 реагировало 4 из 5 животных. В целом из 10 случаев реакций на оба разведения в 5 случаях они были более интенсивные реакции на белорусский препарат, в одном случае - равные, что свидетельствует о равной активности сравниваемых препаратов и возможности использовать серию 20 туберкулина очищенного в качестве контрольной.

Сравнение активности и специфичности туберкулина очищенного (серия 37) с ППД туберкулином, стандартизированным по Первому международному стандарту PPD bovine (NIBSC Вейбридж, Великобритания) 1986 г. (табл.2).

Таблица 2

Активность и специфичность туберкулина очищенного (серия 37) и ППД туберкулина, стандартизированного по Первому международному стандарту PPD bovine

Номер животного	Утолщения кожной складки в мм				Интенсивность реакций на 1 дозу	Интенсивность реакций на 2 дозу
	PPD tuberculina mamifera AN5 0,1 мг	PPD tuberculina mamifera AN5 0,02 мг	Туберкулин очищ. с.37 10000МЕ	Туберкулин очищ. с.37 2000МЕ		
Сенсибилизированные живым штаммом M. bovis BCG-1						
9785/1	3	2	7	4	+	+
9784/28	9	3	9	4	=	+
9725/12	3	3	8	6	+	+
Сенсибилизированные инактивированным штаммом M. bovis Vallee						
З-ся	8	5	7	2	-	-
Л-ся	12	5	6	2	-	-
Ш-ф	12	5	6	1	-	-
Сенсибилизированные смесью M.avium 1603, M.terrae 17522, M.fortuitum 342						
9794/50	5	3	5	1	=	-
9756/31	3	2	5	1	+	-
44	7	4	7	0	=	-

Из таблицы 2 видно, что все животные, сенсибилизированные M. bovis реагировали на 1 дозу сравниваемых препаратов. На вторую дозу этот показатель составил 5 и 3. Всего из 12 случаев только в 6 случаях более интенсивная реакция была на PPD bovine (активность достоверно не отличается).

При оценке видовой специфичности на животных, сенсибилизированных смесью M.avium 1603, M.terrae 17522, M.fortuitum 342 на диагностическую дозу PPD bovine реагировало 3 из 3, а на туберкулин очищенный - 2 из 3 животных. На разведенный PPD bovine реакция отмечалась у 2 из 3 животных. Реагирующих на пятикратно уменьшенную дозу туберкулина очищенного не было. Эти результаты свидетельствовали о тенденции большей видовой специфичности туберкулина очищенного.

В опыте с одновременным применением КАМ оценили эффективность туберкулина очищенного в симультанной пробе (таблица 3).

Сравнение туберкулина очищенного и ППД туберкулина в симультанной пробе

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм			Оценка симультанной пробы
	ППД туберкулин, серия 11	Туберкулин очищенный, серия 37	КАМ, сер.9	
Животные, sensibilizированные живым штаммом M. bovis BCG-1				
9733	13	9	6	+
7287	4	4	1,5	+
M. avium 1603, M. terrae 17522, M. fortuitum 342				
9729	9	7	9	=/-
5903	2	7	6	-/+
9747	4	6	9	-/-

Как видно из таблицы 3, все животные, sensibilizированные M. bovis были правильно определены с помощью туберкулина очищенного и КАМ. Из числа животных, инфицированных атипичными микобактериями оба аллергена правильно определили 2 из 3 животных.

Сравнение активности разных серий туберкулина очищенного Витебской биофабрики с ППД туберкулином для млекопитающих Курской биофабрики и ППД туберкулином, стандартизированным по 1 международному стандарту PPD bovine (NIBSC Вейбридж, Великобритания) 1986 г. (табл. 4)

Таблица 4

Сравнительная активность туберкулина очищенного, ППД туберкулином для млекопитающих и PPD tuberculina mamifera AN5

Номер животного	Утолщения кожной складки в мм			
	PPD tuberculina mamifera AN5, Argentina, 0,2 мг (удвоенная доза)	ППД туберкулин сер. 11 Курской биофабр. 10000МЕ	Туберкулин очищенный, серия 33 10000МЕ	Туберкулин очищенный, серия 24 10000МЕ
Сensibilizированные живым штаммом M. bovis BCG-1				
9720	7	5	9	7
9719	11	10	12	9
9725	3	3	7	6
Сensibilizированные инактивированным штаммом M. bovis Vallee				
С-н	11	9	6	8
Л-я	9	2	7	3

Установлено, что во всех случаях на туберкулин очищенный и PPD tuberculina mamifera AN5 отмечены кожные реакции сопоставимые по интенсивности. В 1 случае животное не реагировало на ППД туберкулин Курской биофабрики.

На туберкулин очищенный серий 33, 24 и PPD tuberculina mamifera AN5 (в удвоенной дозе) из 5 животных -3 интенсивнее реагировали на 33 серию, на 24 серию более интенсивные реакции были в 1 случае, равные – в 1 случае.

При сравнении интенсивности реакций на туберкулин очищенный серий 33 и 24 с ППД туберкулином серии 11 Курской биофабрики (10000МЕ) из 5 животных -4 интенсивнее реагировали на 33 серию, на 24 серию более интенсивные реакции были в 3 случаях.

При сравнении интенсивности реакций PPD tuberculina mamifera AN5 (в удвоенной дозе) с ППД туберкулином серии 11 Курской биофабрики (10000МЕ) из 5 животных - 4 интенсивнее реагировали на PPD tuberculina mamifera AN5, в 1 случае реакция была равной.

В целом полученные результаты свидетельствовали о том, что разные серии туберкулина очищенного обладают выраженной специфической активностью, не уступающей референтному образцу ППД туберкулина (таблицы 5,6).

Таблица 5

Сравнение активности контрольной серии ППД туберкулина для млекопитающих и туберкулина очищенного серии 24

Номера животных M.bovis BCG	Утолщение кожной складки в мм		
	ППД туберкулин, серия 11, 10000МЕ (контроль)	Туберкулин очищенный, серия 24 10000МЕ	Оценка интенсивности реакций
9772	11	10	-
9702	4	6	+
9703	12	4	-
9758	9	11	+
9235	13	9	-
Б№	4	3	-

Таблица 6

Сравнение активности контрольной серии ППД туберкулина для млекопитающих и туберкулина очищенного серии 33

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм		
	ППД туберкулин серия 11, 10000МЕ (контроль)	Туберкулин очищенный, серия 33 10000МЕ	Оценка интенсивности реакций
Сенсибилизированные инактивированным штаммом M. bovis Vallee			
9772	12	8	-
бн	11	9	-
бн	10	9	-
Животные, сенсибилизированные живым штаммом M. bovis BCG-1			
3190	3	5	+
9785	5	13	+
9733	8	14	+

Испытание туберкулина очищенного в сравнении с ППД туберкулином на крупном рогатом скоте экспериментально и спонтанно зараженном микобактериями.

Провели испытание туберкулина очищенного серий 29 и 31 на 984 головах коров 4 стад из хозяйств Гомельской области (таблицы 8, 10). Предварительно оценили активность и специфичность препаратов на экспериментально инфицированных животных (таблицы 7,9).

Как видно из таблицы 7, все животные, инфицированные M.bovis реагировали на туберкулин очищенный серии 29. Интенсивность реакций была сопоставима с ППД туберкулином, но ни одна голова крупного рогатого скота, инфицированного атипичными микобактериями не реаги-

рвала на туберкулин очищенный серии 29, в то время как 1 животное из 2 давало интенсивную реакцию на ППД туберкулин.

Таблица 7

Активность и специфичность туберкулина очищенного серии 29 на экспериментально инфицированном крупном рогатом скоте

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм			Оценка интенсивности реакций
	PPD tuberculina mamifera AN5 0,1 мг	Туберкулин очищенный, серия 29 10000МЕ		
M. bovis				
1	10	6		-
2	3	4		+
3	11	8		-
9733/33	13	4		-
M. avium 1603, M. terrae 17522, M. fortuitum 342				
9729 (22)	9	2		-
5903 (54)	2	2		=

Испытание в полевых условиях подтвердило более высокую специфичность и активность туберкулина очищенного серии 29. Из 198 коров 194 не реагировали на сравниваемые препараты, 3 реагировали на ППД туберкулин, 3 на туберкулин очищенный, из них в 2 случаях реакции совпали, в 1 случае корова реагировала только на ППД туберкулин. Однако при этом у нее наблюдалась более интенсивная реакция на КАМ (12 мм). В 1 случае животное реагировало только на туберкулин очищенный. Таким образом, принимая во внимание результат симультанной пробы можно сделать заключение о более высокой специфичности и активности туберкулина очищенного.

Таблица 8

Результаты испытания туберкулина очищенного серии 29 в РСУП «Демехи» ф.Красное

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм			Оценка симультанной пробы
	ППД туберкулин, серия 9	Туберкулин очищенный серия 29	КАМ сер.9	
РСУП «Демехи» ф.Красное				
194 коров	нет	нет		
9967	3	3	8	-
6070	0	4	0	+
9878	5	0	12	-
9743	6	5	10	-

При испытании туберкулина очищенного серии 31 установлено, что на него реагировали все животные, инфицированные M. bovis, а интенсивность реакций была сопоставима с реакциями на ППД туберкулин. В тоже время препарат оказался специфичнее ППД туберкулина в кожной пробе на животных, инфицированных атипичными микобактериями. Так же как и на 29 серию, на него реагировало на 50% животных меньше (табл.9).

**Активность и специфичность туберкулина очищенного серии 31
на экспериментально инфицированном крупном рогатом скоте**

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм		
	ППД туберкулин, серия 11, 10000МЕ (контроль)	Туберкулин очищенный, серия 31, 10000МЕ	Оценка интенсивности реакций
Животные, сенсibilизированные живым штаммом M. bovis BCG-1			
9733	9	8	-
9785	6	5	-
9784	9	11	+
33	13	8	-
Животные, сенсibilизированные смесью M. avium 1603, M. terrae 17522, M. fortuitum 342			
9729 /22	9	1	-
5903 /54	3	3	=
9747/15	2	2	=

В полевых условиях на оба препарата не реагировало 568 коров. Из 18 коров, у которых были отмечены реакции в 8 (44,5%) случаях они совпали на оба туберкулина. В 3 случаях (16,7%) были отмечены реакции на ППД туберкулин и отсутствие реакций на туберкулин очищенный при более интенсивной реакции на КАМ, что также можно расценить, как более высокую специфичность туберкулина очищенного. В 5 случаях (27,7%) (выделены темным шрифтом) реакции отмечались на ППД туберкулин при оценке симультанной пробы, как «+». Из них только в 2 случаях (11%) реакции на ППД туберкулин были достаточно интенсивными 5-6 мм. Следовательно, только в 11% случаев из числа реагировавших между показаниями туберкулина очищенного и ППД туберкулина имелись различия не в пользу первого, что вполне допустимо при сравнении препаратов, полученных по разным технологиям. В частности, нами при сравнении ППД туберкулинов Курской биофабрики и Sanofi в проблемном стаде установлены несовпадения реакций в 6 случаях (66,7%) из 9.

Таблица 10

**Результаты испытания туберкулина очищенного серии 31
в хозяйствах Петриковского и Ветковского районов**

Номер животного	Утолщение кожной складки в мм			Оценка симультанной пробы
	ППД туберкулин, серия 3	Туберкулин очищенный, серия 31	КАМ, сер.1	
1	2	3	4	5
СПК «Куритичи» ф. Сапоново				
188 коров	нет	нет		
3759	2	2	3	-
6046	4	1	3	+
3792	4	2	8	-
КСУП «Заветы Ильича» ф. Бабуничи				
197 коров	нет	нет		
7258	3	4	7	-
7915	3	0	4	-

1	2	3	4	5
РСУП «Дружба» Ф. Неглубка				
183 коровы	0	0		
363	3	0	0	+
1067	4	6	0	+
1742	3	0	0	+
4564	3	0	3	=
1762	5	3	9	-
4262	5	6	11	-
1792	6	0	0	+
71776	5	2	0	+
1775	5	0	0	+
4253	8	5	10	-
1791	7	3	6	+
4092	3	0	6	-
4234	6	4	4	+

Таблица 11

**Результаты сравнительного изучения ППД туберкулина Курской биофабрики
и PPD Sanofi в хозяйстве, неблагополучном по туберкулезу
(с-з «Докторовичи» ф. Островок, 14-17.04.1998 г.)**

№ коровы	Утолщения кожной складки в мм	
	ППД туберкулин Курской биофабрики	PPD Sanofi
5471	2	5
5446	7	3
5952	5	7
5482	4	0
5428	2	3
5238	0	3
63	5	6
5463	0	7
5952	5	7
5459	4	0

ВЫВОДЫ

1. Контрольная серия 20 туберкулина очищенного в дозе 10000МЕ соответствует по активности PPD bovine в дозе 2000МЕ Первого международного стандарта (NIBSC Вейбридж, Великобритания, 1986 г.).

2. Производственные серии туберкулина очищенного в диагностической дозе на крупном рогатом скоте, сенсibilизированном возбудителем туберкулеза, достоверно не отличаются по активности от ППД туберкулинов зарубежного производства.

3. В условиях эксперимента на крупном рогатом скоте, и при испытании в хозяйствах, подтверждено, что туберкулин очищенный более специфичен, чем PPD bovine и ППД туберкулин Курской биофабрики, поэтому в благополучных стадах на него реагирует меньше животных, инфицированных атипичными микобактериями. Это подтверждается более интенсивными реакция-

ми на КАМ.

4. Туберкулин очищенный Витебской биофабрики может быть использован в симультанной пробе с КАМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *OIE Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. 2000. P. 359- 369.*