

3. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств : ТР ТС 029/2012.
4. Менеджмент риска. Принципы и руководство : ГОСТ Р ИСО 31000-2010.
5. Гириш, Т. А. Методика анализа рисков при производстве лекарственных средств / Т. А. Гириш // РИА Стандарты и качество. Методы оценки соответствия. – 2013. – № 5. – С. 22–24.
6. Критерии оценки тяжести последствий : ГОСТ Р 51705.1-2001.

Поступила 10.07.2017 г.

УДК 636.52/58.083:636.085.16

**А. И. Албулов¹, М. А. Фролова¹, П. П. Красочко²,
И. А. Красочко³, А. В. Гринь¹, Ж. Ю. Мурадян¹**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУКЦИНАТА ХИТОЗАНА
В КАЧЕСТВЕ ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ
СУХОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ
ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н, Московская обл., Россия

²УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь

³РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь

Введение

В настоящее время для повышения сроков хранения биопрепаратов используется ряд приемов: хранение в жидком азоте (вакцина против болезни Марека), высушивание на носителях (пылевидная вакцина против классической чумы свиней), лиофильное высушивание (живые вакцины) [1–5].

В качестве защитных сред для лиофильного высушивания биопрепаратов используют среды на основе желатина (ВГНКИ № 3), среды на основе лактальбумина и желатина, сухого обезжиренного молока. Однако лиофильно высушенных инактивированных вакцин для профилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота на рынке биопрепаратов нет.

Новым перспективным направлением при изготовлении сухих вакцин является использование хитозана. Его отличительной особенностью является высокая защитная и сорбционная активность, иммуностимулирующие свойства.

Цель исследований – изучить возможность применения хитозана сукцината в качестве защитной среды при изготовлении вакцины сухой инактивированной против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в условиях Научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины» и в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского». В качестве антигена использовали инактивированный теотропином вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (штамм «КМИЭВ-V123»).

Для решения поставленной задачи исследовали эффективность нескольких составов защитных сред:

- защитная среда № 1 – желатин (2,0 %), сахара (7,5 %), агар (0,2 %), антибиотики (Среда ВГНКИ № 3);
- защитная среда № 2 – желатин (2,0 %), сахара (7,5 %), лактоальбумина гидролизат (10,0 %), антибиотики;
- защитная среда № 3 – 0,5 %-ный раствор хитозана сукцината;
- защитная среда № 4 – сухое обезжиренное молоко.

Изучение антигенной активности полученного препарата до и после сушки проводили в опыте на лабораторных животных (табл. 1). Для этого было взято 10 групп мышей по 5 животных в каждой. Кровь от мышей брали через 21 день после второго введения вакцины. Титр антител изучали в Реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

Таблица 1. Изучение антигенной активности полученного препарата до и после сушки

Опытная группа	Препарат*	Защитная среда	
		до высушивания	после высушивания
№ 1	Инактивированный вирус	+	–
№ 2	ИРТ + защитная среда № 1	–	+
№ 3	Инактивированный вирус	+	–
№ 4	ИРТ + защитная среда № 2	–	+
№ 5	Инактивированный вирус	+	–
№ 6	ИРТ + защитная среда № 3	–	+
№ 7	Инактивированный вирус	+	–
№ 8	ИРТ + защитная среда № 4	–	+
№ 9	Инактивированный вирус ИРТ без защитных сред	–	–
№ 10	Контроль	–	–

*Вводили подкожно в дозе 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследований было лиофильно высушено по 20 флаконов инактивированного теотропином вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (штамм «КМИЭВ-V123») с каждой из испытываемых защитных сред. Для оценки эффективности сушки была проверена растворимость вакцины и антигенная активность полученного препарата до и после сушки.

После сушки биопрепарат имел хорошую растворимость – в среднем 4,0–5,0 мин (защитная среда № 1 – $4,2 \pm 0,23$ мин, защитная среда № 2 – $5,0 \pm 0,26$ мин; защитная среда № 3 – $4,0 \pm 0,13$ мин; защитная среда № 4 – $4,8 \pm 0,23$ мин).

На следующем этапе наших исследований изучалась антигенная активность опытных образцов препаратов сухой инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота до и после сушки (табл. 2). Сублимационная сушка снижала антигенную активность препарата в среднем на $0,2 \log_2$, но при этом антигенная активность вируса ИРТ в сухой вакцине с изучаемыми защитными средами была выше активности инактивированного вируса ИРТ без защитных сред. Особенно это отмечается в отношении защитной среды № 3 – 0,5 %-го раствора хитозана.

Таблица 2. Результаты изучения антигенной активности вируса ИРТ с различными защитными средами до и после лиофильной сушки

Образец	Период наблюдения	Титр антител, \log_2	
		до иммунизации	после иммунизации
Защитная среда № 1	До сушки	$0,4 \pm 0,14$	$4,0 \pm 0,32^*$
	После сушки	$0,2 \pm 0,11$	$3,8 \pm 0,13^*$
Защитная среда № 2	До сушки	$0,6 \pm 0,26$	$3,6 \pm 0,18^*$
	После сушки	$0,4 \pm 0,22$	$3,4 \pm 0,19^*$
Защитная среда № 3	До сушки	$0,2 \pm 0,18$	$4,2 \pm 0,33^*$
	После сушки	$0,4 \pm 0,14$	$4,0 \pm 0,44^*$
Защитная среда № 4	До сушки	$0,4 \pm 0,12$	$3,5 \pm 0,14^{**}$
	После сушки	$0,4 \pm 0,16$	$3,2 \pm 0,21^{**}$
Вирус без защитной среды	–	$0,6 \pm 0,26$	$3,0 \pm 0,45^{**}$
Контрольная группа	–	$0,6 \pm 0,22$	$1,40 \pm 0,24$

* $P \leq 0,001$.

** $P \leq 0,01$.

При внутрикожном введении профилактическая эффективность вакцины составила от 92,3 до 93,5%. На вакцину против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота сорбированную инактивированную сухую с использованием в качестве защитной среды сукцината хитозана подана заявка № 2016132302/10(050081) от 05.08.2016 г.

Заключение

Проведенные исследования показали, что использование 0,5 %-го раствора сукцината хитозана в качестве защитной среды высушивания при изготовлении сухой инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота обеспечивает высокую сохранность иммуногенной активности биопрепарата. Сукцинат хитозана обладает хорошей растворимостью в воде, что позволяет использовать физиологический раствор для восстановления инъекционной формы вакцины, отказавшись от дорогостоящих растворителей.

Литература

1. Воробьева, А. А. Новые принципы и методы создания иммунобиологических препаратов / А. А. Воробьева, Н. В. Медуницын // Медицина. – 1999. – № 10. – С. 16–17.
2. К вопросу о стандартизации разработки технологии сублимационного высушивания биопрепаратов / А. Я. Самуйленко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Владимир, 2003. – С. 379–383.
3. Нежута, А. А. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов / А. А. Нежута, Э. Ф. Токарик, А. Я. Самуйленко. – Курск : Изд-во Курской гос. с.-х. акад., 2002. – 240 с.
4. Перспективы использования хитозана в производстве вакцин / А. И. Албулов [и др.] // Роль ветеринарной науки и практики в эффективном развитии животноводства : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Алматы, 2012. – С. 62–67.
5. Senel, S. Potential application of chitosan in veterinary medicine / S. Senel, S. J. McClure // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2004. – Vol. 56. – № 10. – P. 1467–1480.

Поступила 26.06.2017 г.

УДК 619:616-036.22:578

Н. М. Пухова, А. Я. Самуйленко

ИСТОРИЯ РАЗРАБОТКИ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОИЗВОДСТВА АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН ИЗ ВИРУСА БЕШЕНСТВА, ШТАММ «ЩЕЛКОВО-51»

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», г. Щелково, Московская обл., Россия*

В комплексе мероприятий по предупреждению бешенства и снижению социально-экономического давления инфекции на человечество ведущую роль отводят антирабическим вакцинам для животных. Первая вакцина (Луи Пастер, 1885 г.) представляла собой взвесь тканей мозга кроликов и содержала живой вирус. Естественно при всей своей значимости она имела большие недостатки.

Специалисты считают, что антирабические вакцины должны быть в первую очередь безопасны и высокоэффективны. Они должны содержать в своем составе минимальное количество балластных белков, индуцировать в короткий срок напряженный и длительный иммунитет при малых дозировках, быть простыми в изготовлении и стабильными при длительном хранении, а также пригодными к применению в составе ассоциированных вакцин. Достижения современной техники и вирусологии делают получение таких вакцин вполне реальным.

В нашей стране до 1980-х годов в основном применяли тканево-мозговые вакцины из фиксированного вируса бешенства, штамм «Овечий», изготовлен-