

10. Pizza A.T. Effect of the Contents and Form of Rabies Glycoprotein on the Potency of Rabies Vaccination in Cattle / A.T. Piza, K.M.S. Pieri, G.M. Lusa [et al.] // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – 2002. – Vol. 97. – P. 265–268.

11. Schiffelers M.-J. Replacing the NIH test for rabies vaccine potency testing: A synopsis of drivers and barriers / M.-J. Schiffelers, B. Blaauboer, W. Bakker, C. Hendriksen // Biologicals. – 2014. – Vol. 35. – P. 1–13.

ОЦЕНКА СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНО- БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*П.А. Красочко, Д.С.Борисовец, Ю.В.Ломако, Т.А.Зуйкевич, О.Н.Новикова,
Г.Е.Толяронок, Л.А.Амосова*

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г.
Минск, Республика Беларусь

e-mail: borisovets_ bievm@tut.by

Аннотация. Проведены исследования по оценке сенсibiliзирующих свойств вакцины для профилактики вирусно-бактериальных пневмоний крупного рогатого скота, установлены проявления незначительных местных реакций организма лабораторных животных. С целью снижения сенсibiliзирующих свойств вирусных антигенов в составе разработанного биопрепарата усовершенствована технология изготовления вакцины инактивированной эмульгированной. Установлено, что дополнительная очистка вирусных антигенов от клеточного детрита приводила к уменьшению их сенсibiliзирующих свойств.

Ключевые слова: вакцина, сенсibiliзация, крупный рогатый скот, вирусно-бактериальные пневмонии.

Сенсибилизация (от лат. *sensibilis* — чувствительный), приобретение организмом специфической повышенной чувствительности к чужеродным веществам — аллергенам. Сенсибилизацию могут вызвать бактерии и вирусы (их антигены и токсины), сыворотки, химические вещества, в т. ч. многие лекарственные средства и др. Механизмы развития сенсибилизации во многом напоминают процесс развития иммунитета и также сопровождаются выработкой антител. Повторное воздействие аллергена на сенсибилизированный организм может вызвать анафилаксию. Состояние сенсибилизации может быть снято или ослаблено путём десенсибилизации организма [1, 2, 3].

Учет сенсибилизирующих свойств обязателен и проводится после оценки токсичности всех новых фармакологических веществ. Исследованию подлежат субстанции и все лекарственные формы. Особенно тщательной проверке должны быть подвергнуты вещества, содержащие белковые примеси и другие высокомолекулярные соединения. Если лекарственная форма содержит вспомогательные вещества (стабилизаторы, растворители и т.п.), неразрешенные для применения в медицинской практике и неизученные ранее на этот вид активности, то каждое из этих веществ исследуют отдельно. При комбинации нескольких фармакологических веществ в одной лекарственной форме (фиксированная комбинация) изучают аллергенность комбинации в целом и каждого ингредиента в отдельности, если он не был ранее разрешен для применения в медицинской практике[4].

Целью работы явилось изучение сенсibiliзирующих свойств разработанной вакцины для профилактики вирусно-бактериальных пневмоний крупного рогатого скота.

На базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского разработана ассоциированная вакцина для специфической профилактики инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и пастереллеза крупного рогатого скота «Белвиropаст». С целью конструирования указанного биопрепарата использованы штаммы вирусов инфекционного ринотрахеита (КМИЭВ-V123), вируса диареи (КМИЭВ - V120), парагриппа-3 (КМИЭВ - V124), бактерий *Mannheimia haemolytica* (КМИЭВ - B158) и *Pasteurella multocida* тип А (КМИЭВ - B166).

Исследования по оценке сенсibiliзирующих свойств сконструированной вакцины и входящих в ее состав антигенов проводили на морских свинках живой массой 250-300 г. по следующей схеме:

1. Опытная группа 1 (3 головы) – 1-ое введение – вирусы ИРТ+ВД+ПГ-3+ISA 206 – 2 см³ внутримышечно; 2-ое введение – через 14 дней вирусы ИРТ+ВД+ПГ-3 (в разведении 1:10 изотоническим раствором натрия хлорида) – 0,5 см³ внутрисердечно.

2. Опытная группа 2 (3 головы) – 1-ое введение – бактерии (отмытая культура) *P. multocida*+*M. haemolytica*+ISA 206 – 2 см³ внутримышечно; 2-ое введение – через 14 дней бактерии *P. multocida*+*M. haemolytica* (в разведении 1:10

изотоническим раствором натрия хлорида) – 0,5 см³ внутрисердечно.

3. Опытная группа 3 (3 головы) – 1-ое введение – ИРТ+ВД+ПГ-3+*P. multocida*+*M. haemolytica*+ISA 206 – 2 см³ внутримышечно; 2-ое введение – через 14 дней ИРТ+ВД+ПГ-3+*P. multocida*+*M. haemolytica* (в разведении 1:10 изотоническим раствором натрия хлорида) – 0,5 см³ внутрисердечно.

4. Опытная группа 4 (3 головы) – 1-ое введение – бактерии (бульонная культура) *P. multocida*+*M. haemolytica*+ISA 206 – 2 см³ внутримышечно; 2-ое введение – через 14 дней бактерии *P. multocida*+*M. haemolytica* (в разведении 1:10 изотоническим раствором натрия хлорида) – 0,5 см³ внутрисердечно.

С целью снижения сенсibiliзирующих свойств вирусных антигенов в составе разработанного биопрепарата усовершенствована технология изготовления вакцины инактивированной эмульгированной для профилактики вирусно-бактериальных пневмоний крупного рогатого скота, которая включала центрифугирование вируссодержащей суспензии при 5300 об/мин в течение 10 минут и фильтрацию полученной после центрифугирования надосадочной жидкости с использованием фильтров Millipore с размером пор 0,45 мкм (осветляющая фильтрация).

Полученный биопрепарат вводили лабораторным животным – морским свинкам живой массой 250-300 г. с целью контроля

уровня антител на каждый антиген в составе вакцины после их дополнительной очистки методом фильтрации.

Для проведения опыта использовали 6 голов морских свинок, которых разделили на 2 группы (1 опытная и 1 контрольная) по 3 головы в каждой. Вакцину вводили животным опытной группы подкожно в объеме по 1,0 см³ однократно. Животным контрольной группы однократно вводили стерильный физиологический раствор в том же объеме. Перед проведением иммунизации и через 21 сутки после вакцинации у животных отбирали пробы крови и получали сыворотку. Наличие противовирусных антител в полученной сыворотке определяли в РНГА, антибактериальных – в РА.

На протяжении опыта за животными велось клиническое наблюдение и контрольное взвешивание, с целью исключения реактогенных и сенсибилизирующих свойств сконструированного биопрепарата.

В результате проведенных исследований по оценке сенсибилизирующих свойств сконструированной вакцины и входящих в ее состав антигенов на морских свинках была выявлена следующая клиническая картина: у животных 1-ой опытной группы обнаружили образование небольших язвочек на месте введения образцов биопрепарата, у морских свинок 3-ей опытной группы наблюдалось снижение массы тела, что, по-видимому, обусловлено воздействием на организм лабораторных животных клеточного детрита, содержащегося в составе вирусных компонентов. Для снижения вышеописанных побочных реакций пришли к выводу о

необходимости дополнительной очистки вирусных антигенов от клеточного детрита.

Результаты исследований по снижению сенсibiliзирующих свойств вирусных антигенов после дополнительной стадии очистки оценивали по уровню антител в крови морских свинок (см.табл.).

По данным таблицы установлено достоверное ($P \leq 0,001$) увеличение титров противовирусных антител на $4,0-9,0 \log_2$, обусловленное дополнительной очисткой вирусных антигенов от клеточного детрита методом центрифугирования и осветляющей фильтрации; титр антибактериальных антител также увеличивался на $4,0 \log_2$ ($P \leq 0,001$).

Таблица

Титры антител в крови морских свинок после применения средства специфической профилактики

| Группа животных | Титры антител, \log_2 | | | |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|
| | Опытная группа | | Контрольная группа | |
| | До иммунизации | Через 21 день после вакцинации | До иммунизации | Через 21 день после вакцинации |
| Вирус ИРТ | 0 | $4,0 \pm 0,58^{**}$ * | 0 | 0 |
| Вирус диареи | 0 | $8,0 \pm 0^{***}$ | 0 | 0 |
| Вирус ПГ-3 | 0 | $9,0 \pm 0^{***}$ | 0 | 0 |
| Mannheimia haemolytica | 0 | $4,0 \pm 0^{***}$ | 0 | 0 |

Примечание: *** - $P \leq 0,001$.

В результате наблюдения за животными припухлости на месте введения и клинических проявлений не отмечалось, однако контрольное взвешивание показало, что прирост живой массы морских свинок опытной группы за время опыта составил $84,7 \pm 13$ г., в то время как в группе контроля – $109,0 \pm 2,6$ г., что вероятно обусловлено повышенной антигенной нагрузкой на организм морских свинок в результате иммунизации.

Результаты проведенного исследования по оценке сенсibiliзирующих свойств сконструированной вакцины и входящих в ее состав антигенов показали проявления незначительных местных реакций организма. Для снижения побочных реакций была применена дополнительная очистка вирусных антигенов от клеточного детрита, что привело к положительному результату.

Литература

1. Михайлов Л.М., Токарева П.Е., Баранникова Н.П. и др. Сенсibiliзирующие свойства антигенных препаратов из бруцелл в S- и L-формах / Проблемы особо опасных инфекций. – 2014, № 4. – С. 68-70.
2. Грачева Т.А., Рудой Б.А., Рассанов В.П. Оценка сенсibiliзации лабораторных животных, иммунизированных туляремийной вакциной, методом регистрации хемилюминесценции лейкоцитов / Иммунология. – 2006. – Т. 27, № 1. – С. 41-42.
3. Сависько А.А., Харсеева Г.Г., Москаленко Е.П. Прогностическое значение показателей аллергических реакций при вакцинации детей с хронической патологией //Клиническая лабораторная диагностика. – 2011, № 2. – С. 38-40.
4. Любимов Б.И. и др. Оценка аллергенных свойств фармакологических средств: методические рекомендации № 98/300, утв.зам. Министра здравоохранения РФ – 1998. – 20 с.

СУСПЕНЗИОННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ВНК-21/13-13

Е.Н.Крюкова, Р.Н. Мельник, А.Я. Самуйленко, О.А.Колпикова,