

Литература. 1. Волина, Е.Г. Культивирование лептоспир в жидкой питательной среде с лизированной кроличьей кровью / Е.Г. Волина, Л.Е. Саруханова // ЖМЭИ. – 2001. – № 1. – С. 3-5. 2. Зайцева, А.В. Среда для выращивания лептоспирозных бактерий / А.В. Зайцева, Г.Э. Дремач // Патент РФ № 7321. – 2005. 3. Ситьков, В.И. Изготовление и испытание малобелковой питательной среды для культивирования лептоспир / В.И. Ситьков, В.И. Бобрышев, И.К. Тутов // Сборник науч. трудов Ставропольской ГСХА. – Ставрополь, 1994. – С. 42-45. 4. Ситьков, В.И. Новая питательная среда для культивирования лептоспир / В.И. Ситьков, В.И. Бобрышев, И.К. Тутов // Материалы Междунар. конф. – Барнаул, 1995. – С. 98-99. 5. Ситьков, В.И. Научные и практические основы промышленного производства и применения вакцин: Дисс. ... д-ра вет. наук / В.И. Ситьков. – М., 1997. – С. 29-33. 6. Соболева, Г.Л. Рост лептоспир в альбуминовой питательной среде / Г.Л. Соболева // Биологические препараты против инфекционных болезней животных. – М., 1981. – С. 51-54. 7. Справочник ветеринарного лаборанта / Ф.З. Андросов [и др.]; под ред. В.Я. Антонова. – М.: Колос, 1981. – С. 37.

УДК 615.281.34.25.37

РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ЭКСТРЕННОЙ ЗАЩИТЫ ЦНС ЖИВОТНЫХ ОТ ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Иванов В.С., Еремец В.И., Пухова Н.М., Лебедько Е.И., Салов Д.А.

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности
Россельхозакадемии, г.Щелково, Россия

Антирабические иммуноглобулины или антирабические сыворотки используются для экстренной защиты людей и животных от бешенства во всех странах мира. Имеются определенные проблемы в получении высококачественных стабильных сывороточных препаратов. Была показана возможность получения и применения антирабической сыворотки крупного рогатого скота в качестве дополнительного специфического средства для спасения животных от бешенства.

Specific immunoglobulines or serumes are using for urgent safe of human and animals from rabies. Effective and stability antirabies bovine serum was devised and application for the success safe of animals.

Введение. Бешенство - летальная вирусная болезнь животных и человека, при которой мишенью поражения является ЦНС. Заражение происходит главным образом через укус. При укусах, сопровождающихся появлением крови, вирус неминуемо вступает в контакт с мышечными клетками и нервными окончаниями.

Часть его может задерживаться в воротах инфекции и начать репродуцироваться в мышечных клетках, а другая часть может быть захвачена нервными окончаниями и начать продвижение в нервных волокнах к ЦНС со скоростью примерно 50-100 мм/сут. (1, 2). Поэтому, по мнению экспертов по бешенству, любой укус с появлением крови должен рассматриваться как опасный укус 3-й категории тяжести (3), требующий комбинированного применения антирабического иммуноглобулина (АИГ) и вакцины.

Обычно для пассивной иммунизации людей используют человеческий или лошадиный иммуноглобулин в дозах 20 МЕ/кг и 40 МЕ/кг, соответственно.

Вся доза АИГ незамедлительно вводится в ткани вокруг ран и вглубь внутримышечно. Вакцинацию проводят в день пассивной иммунизации и на 3, 7, 14, 30-й день после начала вакцинации (4). При некоторых обстоятельствах допускается проведение пассивной иммунизации после вакцинации, но не позднее 7-и суток с момента начала вакцинации (5). Применение антирабических антител преследует цель защиты ЦНС от вируса бешенства до его проникновения в этот орган и выигрыша времени для формирования поствакцинального иммунитета.

Следует признать, что, несмотря на видимую простоту и законченность тактики экстренной профилактики бешенства у людей, имеются вопросы, которые не акцентируются, но постоянно напоминают о себе и требуют своего решения.

Отмечается сложность производства сывороточных препаратов, их недостаточная стандартизованность и эффективность, и самое неприятное - угнетающее влияние пассивной иммунизации на формирование активного иммунитета (6, 7, 8, 9), которое, правда, можно несколько снизить путем изменения очередности введения препаратов (10,11). Однако, несмотря на выявленные недостатки, существующая технология экстренной защиты людей от бешенства применяется с положительным эффектом уже не одно десятилетие практически во всех странах мира.

В ветеринарной практике вынужденную, фактически постэкспозиционную, иммунизацию животных осуществляют только антирабическими вакцинами, хотя показания к применению антирабического иммуноглобулина или антирабической сыворотки имеются.

Во многом это объясняется отсутствием доступных и активных препаратов для пассивной иммунизации животных.

Целью настоящей работы являлась разработка доступного рационального способа получения высокоактивного стабильного при хранении сухого стандартизованного антирабического сывороточного препарата и технологии его применения для экстренной постэкспозиционной защиты ЦНС ценных или просто любимых животных от вируса бешенства.

Материал и методы. В опытах использовали 5 бычков массой 230-250 кг и антирабическую референс-вакцину серии 1-06 с активностью 1,8 МЕ/мл, изготовленную во ВНИТИБП из вируса бешенства штамм Щелково-51, репродуцированного в монослое культуры клеток ВНК-21. Перед применением сухую вакцину восстанавливали до первоначального объема адьювантным растворителем, с таким расчетом, чтобы в 6 мл вакцины оказалась одна максимальная доза сапонина.

Препарат вводили подкожно в область шеи в дозе 6 мл (10 МЕ) двукратно с интервалом в 38 дней. Через 12 и 19 дней после второй вакцинации от животных брали кровь и методом ее отстаивания и центрифугирования получали сыворотку крови крупного рогатого скота (КРС).

К объединенной в одной емкости сыворотке добавляли 5% защитной среды высушивания, представляющей собой стерильный водный раствор пептона (15%), сахарозы (15%) и желатина (4,5%). Смесь расфасовывали по 10 мл во флаконы объемом 20 см³ и подвергали сублимационному высушиванию.

Вируснейтрализующую активность препарата после изготовления и в процессе хранения определяли классическим методом в реакции нейтрализации на мышах относительно международного сывороточного стандарта против стандартного вируса бешенства штамм CVS (12). Активность сыворотки выражали в международных единицах (МЕ/мл).

Для изучения протективной активности сыворотки КРС на уровне ЦНС определяли скорость формирования невосприимчивости ЦНС к вирусу бешенства при подкожном и внутримышечном введении мышам антирабической сыворотки. Для этого через 1, 2, 3, 5 и 24 ч после пассивной иммунизации определяли индексы защиты, которые рассчитывали по разнице титров интрацеребральной инфекционности вируса бешенства штамм CVS для контрольных и иммунизированных мышей.

Для определения протективной активности антирабической сыворотки КРС на собаках были взяты беспородные щенки примерно 35-40-дневного возраста массой 2,5-3,2 кг. Трех щенкам ввели подкожно по 10 мл сыворотки (500 МЕ/кг), трем другим - по 5 мл (250 МЕ/кг), а щенкам 3-й группы - по 1 мл (50 МЕ/кг). Через 2 дня иммунизированных и неиммунизированных (контрольных) животных заражали в мозг фиксированным вирусом бешенства в дозе 200-300 ЛД₅₀. За животными наблюдали в течение 21 дня.

Результаты исследований. Данные, представленные в табл.1 свидетельствуют, что изготовленная серия антирабической сыворотки, активность которой можно принять за 150 МЕ/мл, характеризуется высокой стабильностью и однородностью. Это во всех отношениях является высоким показателем, который при иммунизации лошадей по схемам ВОЗ едва достигается к 103-116 суткам после 11-18 инъекций антирабического антигена в объеме 1100-1300 мл на одно животное (6).

Таблица 1 - Вируснейтрализующая активность сыворотки крови КРС антирабической сухой в МЕ/мл

№№ проб	Исходная	После хранения					
		№№ проб	6-8°C 24 мес.	№№ проб	20-25°C 12 мес.	№№ проб	36-37°C 5 мес.
1	154	4	151	7	148	10	128
2	145	5	150	8	145	11	130
3	157	6	153	9	150	12	137

Следовательно, двукратное введение культуральной антирабической вакцины из штамма Щелково-51 в комплексе с сапонином, индуцирует у КРС образование специфических антител с активностью, не уступающей активности антител, получаемых при гипериммунизации лошадей по рекомендуемым дорогостоящим и трудоемким схемам.

Важно также отметить, что полученные результаты нашли свое отражение в технологической документации на референс-сыворотку антирабическую сухую, предназначенную для использования в качестве контроля при определении в пробах сыворотки крови животных активности антирабических антител в МЕ/мл. ТУ и «Инструкция по применению референс-сыворотки антирабической сухой» согласованы и утверждены зам. Руководителя Россельхознадзора 3 марта 2008 г.

При подкожной или внутримышечной иммунизации животных антирабическими антителами их протективная активность на уровне ЦНС мышей начинает проявляться через 2 ч после введения и по истечении последующих 3 ч почти достигает своего максимума (табл.2).

Таблица 2 - Время проявления протективной активности антирабических антител на уровне ЦНС мышей

№ опыта	Доза антител, МЕ/кг	Способ введения антител	Индексы защиты (lg ЛД ₅₀) после введения антител через:				
			1 ч	2 ч	3 ч	5 ч	24 ч
1	160-180	подкожно	0	0,8	1,7	2,0	2,3
2	160-180	в/мышечно	0	1,0	1,5	2,1	2,4

В другой серии опытов, проведенных на щенках беспородных собак, были получены данные, свидетельствующие о выраженной протективной активности сыворотки КРС в дозе 250-500 МЕ/кг (табл.3).

Таблица 3 - Протективная активность антирабической сыворотки крови КРС в опытах на собаках

№ группы животных	№ животного	Доза введенных антител, МЕ/кг	Результат интрацеребрального заражения собак
1	1	500	Не заболели
	2	500	Не заболели
	3	500	Не заболели
2	4	250	Не заболели
	5	250	Не заболели
	6	250	Летальный на 8-й день
3	7	50	Летальный на 6-й день
	8	50	Летальный на 7-й день
	9	50	Летальный на 6-й день
4 (контроль)	10	0	Летальный на 6-й день
	11	0	Летальный на 7-й день

Заключение. Проведенные исследования позволяют считать, что для повышения эффективности экстренной защиты животных от бешенства желательнее увеличить рекомендуемую дозу (40 МЕ/кг) вводимых антител до 250-500 МЕ/кг. Этот вывод согласуется с мнением М.А.Селимова, который на основании многолетних наблюдений пришел к заключению, что при ранах опасной локализации, нанесенных людям бешеными волками или другими животными, целесообразно увеличивать дозу гамма-глобулина до 400 МЕ/кг и более (7). Частично он подтверждается и недавними опытами А.Н.Миронова и др. (12), показавшими, что антирабический глобулин сыворотки крови овец обеспечивает защиту 30-100% мышей от уличного вируса бешенства при введении его в инфицированную конечность в дозе 200 МЕ/кг.

В целом, полученные нами результаты указывают на перспективность применения антирабической сыворотки КРС в качестве дополнительного специфического средства для спасения редких и ценных животных от бешенства.

Литература. 1. Finkes S., Conzelmann K.K. Replication strategies of rabies virus//*Vir.Res.*, 2005, v.111, p.120-131. 2. Jackson A.C., Zhen F.F. Pathogenesis of rabies// *J. Neurovirol.*, 2005,v.11, p.74-74. 3. WHO Expert Consultation on Rabies: first report//WHO technical report series, 2004, No 931, 18 p. 4. Комитет экспертов ВОЗ по бешенству: 8 доклад// Серия технических докладов, 864, Женева, 1994. 5. Wilde H., Khawplod P. et al. Rabies control in South and Southeast Asia// *Vaccine*, 2005, v.23, p.2284-2289. 6. Производство лечебной антирабической сыворотки для животных, метод института Пастера; Производство антирабического иммуноглобулина животного происхождения: метод, используемый СССР// Методы лабораторных исследований по бешенству, 3-е издание, ВОЗ, гл.1975, с. 297-303. 7. Селимов М.А. Бешенство, М. Медицина, 1978. 8. Хозинский В.В. и Сошенко Ю.В. Механизмы иммуносупрессивного действия антирабического иммуноглобулина (АИГ), полученного из сыворотки лошадей//*Мат. научной конференции «Современные проблемы рабиологии»*, М., 1998, с.29-30. 9. Иванов В.С., Школьников Е.Э. Экстренная профилактика бешенства//*Тез. докл. Всеросс. конференции «Проблемы инфекционных и инвазионных болезней в животноводстве на современном этапе»*, Мю МВА им.К.И.Скрябина, 1999, с.134-135. 10. Wiktor N., Doherty P., Koprowski H. In vitro evidence of cell-mediated immunity after exposure of mice to both live and inactivated rabies virus// *Proc. Nat. Acad. Sci USA, Immunology*, 1977, v.74, No1, p.334-338. 11. Иванов В.С. Бешенство животных: экспериментально-теоретическое обоснование разработки, производства, применения культуральных инактивированных вакцин и новые подходы к проблеме экстренной защиты ЦНС от возбудителя бешенства// Диссертация в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, Щелково, 2001, 51 с. 12. Миронов А.Н., Хисматуллина Н.А., Чернов А.Н., Юсупов Р.Х. Получение и изучение противовирусной активности антирабического глобулина при экспериментальном заражении белых мышей уличным вирусом бешенства//*Труды между. н.-п. конференции, посвященной 50-летию ВНИИВиМ, Покров, 2008.*

УДК 619:619.98.578-084

ПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ В БЕЛАРУСИ: СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ

Ковалев Н.А., Красочко П.А., Ястребов А.С.

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

Приводятся данные по распространению в Республике Беларусь и клинико-морфологическому проявлению инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, хламидиоза, риносинтициальной, адено-, рота-, коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, вирусного трансмиссивного гастроэнтерита, ротавирусной болезни и респираторно-репродуктивного синдрома свиней, чумы и болезни Ауески, а также бешенства животных. Описываются разработанные и изготавливаемые в РДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского» и других странах диагностикумы и вакцины для профилактики этих заболеваний, а также схемы и методы их применения, другие элементы профилактики. Сделан анализ профилактической эффективности разработанных препаратов.

In this article is a date about distribution, clinical-morphological symptoms of rhinotracheitis, influenza-3, diarrhea, hlamidiosis, rhinosinticial adeno, rota-, caronavirus infections of kettles, transmisiv enteritis, and rotavirus, RRSS Aujesky disease of swine and rabies. Her are description of diagnostic tests and vaccine for phrophilaxy of diseases. Shern and methods of treatment and other elements of phrophilaxy. Here is analyses of phrophilactical efficiency of production medicine drags.

Среди инфекционных заболеваний животных в Беларуси значительное распространение имеют вирусные. Эти заболевания не только сами по себе наносят большой экономический ущерб, но и как правило, провоцируют развитие бактериальных и других заболеваний, особенно на фоне нарушений кормления и условий содержания животных.

Из вирусных инфекций наибольшее экономическое значение для республики имеют респираторные и желудочно-кишечные заболевания крупного рогатого скота и свиней: инфекционный ринотрахеит (ИРТ), парагрипп (ПГ-3), вирусная диарея (ВД), хламидиозная, рино-синтициальная, адено-, рота-, коронавирусная инфекции крупного рогатого скота, вирусный трансмиссивный гастроэнтерит (ВТГ), ротавирусная болезнь (РВБ), респираторно-репродуктивный синдром (РРС) свиней, а также бешенство. Потенциальную угрозу представляют чума и болезнь Ауески свиней. [1]

Так, по данным ветеринарной отчетности, заболевания телят респираторными и желудочно-кишечными заболеваниями с участием вирусных агентов достигают 214-260% от числа родившихся. На долю болезней дыхательных путей приходится от 33 до 60% всех случаев заболевания телят, на долю желудочно-кишечных заболеваний – соответственно 55-70%. Падеж от этих заболеваний составляет от 4 до 6%.

Указанные заболевания регистрируются среди молодняка крупного рогатого скота, в основном с 1-го дня жизни до 6 месяцев. Причем от 37 до 55% животных переболевают по 2 раза и более.