

на и безвредна. Полученные результаты будут использованы для разработки ТУ, наставления по применению биопрепарата.

Таблица – Агглютинирующая активность препарата в зависимости от сроков хранения

Сроки хранения, мес.	фон	1	3	6	12
Титры противосальмонеллезных антител к <i>S. typhimurium</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. dublin</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. cholerae suis</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. enteritidis</i>	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200

Литература: 1.Борисович, Л.В. Ветеринарные препараты: справочник / Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кириллов; под ред. Д.Ф. Осидзе. – Москва: Колос, 1981. - 448 с. 2. Медведев, А.П. О контроле качества ветеринарных биологических препаратов. \А.П. Медведев, А.А. Вербицкий, А.М. Юдашин, С.В. Даровских\ \ Ветеринарная медицина Беларуси. – 2004. - №2 (14). 3.Медведев, А.П. Проблемы производства противобактериальных биопрепаратов для пассивной профилактики и лечения животных. \А.П. Медведев, А.А.Вербицкий, С.В. Даровских \ \ Ученые записки: научно-практический журнал\ Витеб. госуд. академия ветер. медицины. - Витебск, 2006. -Т.42. ч.2- с.37-40 4.Даровских, С.В. Культурально-морфологические и ферментативные свойства сальмонелл, выделенных от телят в хозяйствах РБ.\ О.Н. Саница\ \ Ученые записки: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии», посвященной 80-летию основания УО ВГАВМ-5 ноября 2004г. \ Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины. -Витебск, 2004. -Т. 40.- Ч.1.-с.298-299

УДК 619:616.98:579.869.2

ИЗГОТОВЛЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ВАКЦИНЫ СУХОЙ ЖИВОЙ ПРОТИВ РОЖИ СВИНЕЙ ИЗ МАТРИКСА КОНЕВА ОПЫТНОЙ СЕРИИ И РАСТВОРИТЕЛЯ К НЕЙ

Дремач Г.Э., Зайцев В.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Авторами статьи изготовлена вакцина сухая живая против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии и растворитель к ней и проведен контроль их качества. Установлено, что приготовленный биопрепарат и растворитель по своим показателям соответствуют требованиям действующих ТУ.

A new live dried vaccine against porcine erysipelas on Konev matrix test series and dilutant has been developed. The new vaccine and its dilutant meet the active production requirements.

Введение. К числу наиболее распространенных в Республике Беларусь болезней относится рожа. Неблагополучие хозяйств по данной болезни в значительной степени объясняется нарушением ветеринарно-профилактических мероприятий. Основным мероприятием по профилактике и ликвидации болезни является проведение активной специфической профилактики [5]. С этой целью в Республике Беларусь применяется ряд биопрепаратов, в том числе завозимых из-за рубежа [2, 3, 4, 6].

Наиболее широкое использование для иммунизации свиней против рожи в республике получила депонированная вакцина, производство которой налажено в условиях УП «Витебская биофабрика» [1]. Однако использование данного биопрепарата нередко приводит к появлению у части привитых животных поствакцинальных осложнений и не всегда обеспечивает у них формирование наряженного иммунитета. Это в значительной степени связано с тем, что, во-первых, матрикс Конева, используемый для приготовления депонированной вакцины, обладает остаточными реактогенными свойствами; во-вторых, в процессе хранения биопрепарата происходит снижение жизнеспособности рожистых бактерий и их концентрации в прививочной дозе.

В связи с этим, актуальной задачей в области профилактики и ликвидации рожи у свиней является разработка нового средства специфической профилактики за счет культивирования рожистых бактерий на оптимизированных питательных средах, позволяющих увеличить выход целевого продукта, и разработки способа высушивания и регидратации эризипелотрикссов, обеспечивающих сохранение жизнеспособных микроорганизмов вакцинного штамма в течение более продолжительного времени.

Цель работы – изготовить и провести контроль качества вакцины сухой живой против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии.

Материалы и методы исследований. Работа по изготовлению биопрепарата опытной серии (включая и растворитель) проводилась в условиях вакцинного цеха, контроль качества – отдела контроля качества УП «Витебская биофабрика».

Для изготовления вакцины сухой живой против рожи свиней использовали вакцинный штамм матрикса Конева.

Культивирование рожистых бактерий осуществляли на разработанной нами питательной среде, приготовленной согласно патента на изобретение № 6292 «Питательная среда для выращивания микроорганизмов и способ ее получения». С этой целью готовили водный и кислотно-ферментативный гидролизаты мясокостной муки, щелочно-перекисный гидролизат сыворотки крови животных с последующим смешиванием их в определенных соотношениях.

Для получения водного гидролизата мясокостной муки ее ресуспендировали в воде в соотношении 1:9, где ее выдерживали 8-12 часов при температуре 4-8⁰С. Полученную смесь инкубировали при температуре 100-120⁰С в течение 120 минут. Далее смесь отстаивали 24 часа, после чего надосадочную жидкость декантировали, фильтровали и использовали для изготовления среды. Осадок мясокостной муки использовали для получения кислотно-ферментативного гидролизата.

Для приготовления кислотно-ферментативного гидролизата осадок от производства водного гидролизата, фарш свиных желудков со слизистой оболочкой и воду с рН 2,0 инкубировали при температуре 50⁰С в течение 20 часов и определенном соотношении ингредиентов (вес%). Полученную смесь отстаивали при комнатной температуре в течение 24 часов, надосадочную жидкость декантировали, фильтровали и раскисляли до рН 7,0-7,4 добавлением 20%-ного раствора натрия гидроокиси.

Щелочно-перекисный гидролизат сыворотки крови готовили следующим способом: сыворотку крови животных смешивали в соотношении 1:1 с щелочно-перекисным раствором, содержащим 0,4% натрия гидроокиси и 0,3% перекиси водорода. Смесь инкубировали при температуре 100-120⁰С в течение 40-60 минут. Далее гидролизат закисляли 20%-ной соляной кислотой, фильтровали и стерилизовали.

Для увеличения выхода культур рожистых бактерий в приготовленную питательную среду добавляли стимулятор роста микроорганизмов, приготовленный согласно патента на изобретение № 6293 «Способ получения стимулятора роста бактерий». Для этого сыворотку крови животных, разведенную дистиллированной водой в соотношении 1:1, обрабатывали щелочью, а также окислителем при температуре 100-120⁰С в течение 30-60 минут. В качестве щелочи использовали раствор натрия гидроокиси, а окислителя - раствор перекиси водорода.

Среду для сублимации микроорганизмов готовили согласно патента на изобретение № 7331 «Среда для сублимации грамположительных бактерий и способ ее получения». Указанную среду готовили путем смешивания в необходимом соотношении щелочно-перекисного гидролизата сыворотки крови, ферментативного гидролизата форменных элементов крови животных, ферментативного гидролизата сыворотки крови и защитной композиции определенного состава.

Разбавитель для разведения сухой вакцины изготавливали на основании патента на изобретение № 7560 «Разбавитель для регидратации сухих вакцин из грамположительных бактерий и способ его получения». Для чего приготавливали белковую основу, буферный раствор определенного состава. Далее смесь ингредиентов смешивали с водой в необходимом соотношении.

Контроль приготовленной вакцины опытной серии проводили согласно ТУ РБ 300064019.024-2005 по следующим показателям: определение внешнего вида, цвета вакцины и наличия механических включений; определение ее растворимости; массовой доли влаги в биопрепарате; контаминации вакцины посторонними микроорганизмами и морфологии вакцинного штамма; количества живых бактерий и доз во флаконе; безвредности и иммуногенной активности вакцины.

Одновременно проводили контроль качества приготовленного растворителя по следующим показателям: определение внешнего вида, цвета и наличия механических примесей; его стерильности и безвредности; концентрации водородных ионов (рН).

Для определения внешнего вида и цвета все флаконы с вакциной и растворителем просматривали визуально, одновременно проверяли правильность маркировки и упаковки.

Для определения механических примесей и других посторонних включений содержимое 10 флаконов с вакциной растворяли в 2,5 см³ специфического растворителя. Флаконы с растворенной вакциной и растворителем просматривали визуально.

Для определения растворимости вакцины в каждый из 5 флаконов с препаратом, отобранных для исследования, добавляли по 2,5 см³ растворителя. Биопрепарат должен раствориться не более чем за 3 минуты с образованием гомогенной взвеси.

Определение массовой доли влаги в вакцине производили по ГОСТ 24061-89. Массовая доля влаги в ней должна быть в пределах 1,0 - 3,5 %.

Для определения контаминации вакцины посторонними микроорганизмами и морфологии вакцинного штамма из каждого из 5 флаконов с биопрепаратом производили посеvy в объеме 0,2 см³ в 2 пробирки с МПА, МПБ, средой Китт-Тароцци и Сабуро и по 2 см³ в 2 флакона с МПБ и средой Китт-Тароцци и 3 чашки Петри с МПА по методу Дригальского. Посевы на МПБ выдерживали в течение 24 часов, на МПА и среде Китт-Тароцци - в течение 48 часов при температуре 37⁰С, на агаре Сабуро - при температуре 20⁰С в течение 10 суток.

В посевах на МПБ, МПА и среде Китт-Тароцци в течение 48 часов и среде Сабуро в течение 10 суток не должно быть роста посторонних микроорганизмов. Вакцинный штамм должен давать на МПА через 48 часов роста гладкие колонии, на МПБ через 24 часа - равномерное нежное помутнение.

Для испытания с целью определения количества живых бактерий и доз во флаконе с вакциной применяли 2 разведения препарата: 10⁻⁶ и 10⁻⁷. Из каждого разведения проводили посеvy по 0,1 см³ на МПА и агар Хоттингера в 3 чашках Петри. Посевы с культурой выдерживали при температуре 37⁰С в течение 48 часов. После инкубирования подсчитывали количество выросших колоний в чашках по каждому разведению. Полученные показатели суммировали и делили на количество чашек Петри, определяя среднее коли-

чество живых бактерий для каждого разведения, содержащихся в $0,1 \text{ см}^3$. Затем средние показатели увеличивали в 10 раз, получая количество живых микробных клеток по одному разведению вакцины. После этого добавляли столько нулей, каков показатель сделанного разведения, получая концентрацию микробных клеток исследуемой вакцины по данному разведению. Затем выводили среднюю концентрацию микробных клеток в 1 см^3 вакцины, сложив результаты двух взятых разведений и разделив их на 2.

Количество живых рожистых бактерий во флаконах с вакциной вместимостью $5,0 \text{ см}^3$ должно быть соответственно не менее 3 млрд. м.к.

Количество доз вакцины устанавливали путем деления показателя количества живых бактерий во флаконе с вакциной на количество животных микробных клеток, содержащихся в одной дозе.

Одна иммунизированная доза для свиней соответствует 200 млн. живых рожистых бактерий.

Для определения безвредности вакцины объединенную пробу биопрепарата разводили растворителем до концентрации 500 млн. живых микробных клеток в 1 см^3 . Разведенную вакцину вводили внутримышечно 10 голубям в дозе $0,4 \text{ см}^3$. Вакцину считали безвредной, если все голуби оставались живыми в течение 10 суток наблюдения.

Иммуногенную активность биопрепарата изучали на белых мышах, находящихся в опыте проведения определения безвредности. Через 11-12 суток 10 вакцинированных и 10 контрольных (неиммунизированных) мышей заражали подкожно стандартной бульонной культурой контрольного штамма № 149 возбудителя рожи свиней, разведенной физиологическим раствором в дозе по 10 LD_{50} в объеме $0,1 \text{ см}^3$. За животными установили наблюдение в течение 10 суток. При этом обращали внимание на случаи заболевания и падежа белых мышей в период наблюдения. Вакцину считали активной в том случае, если она предохраняла от заражения и гибели не менее 8 мышей из 10 вакцинированных лабораторных животных, при гибели 10 контрольных мышей в течение 3-4 суток.

Для проведения испытания на стерильность использовали 5 флаконов с растворителем. Проводили посев растворителя в объеме $0,5 \text{ см}^3$ в пробирки с МПА, МПБ, средами Китт-Тароцци и Сабуро и по 2 см^3 во флаконы с МПБ и средой Китт-Тароцци. Посевы осуществляли в 2 пробирки и 2 флакона с каждой средой из каждого флакона. Через 2-е суток из питательных сред производили пересев в объеме $0,5 \text{ см}^3$ в 2 пробирки с МПА, МПБ и средой Китт-Тароцци. На среде Сабуро посевы выдерживали при температуре $20-22^\circ\text{C}$, а на остальных средах – при температуре $36-38^\circ\text{C}$. Первичные посевы выдерживали в термостате в течение 10, а вторичные – 8 суток. Растворитель признается стерильным, если в посевах на питательные среды отсутствует рост микроорганизмов.

Для определения безвредности растворителя готовили объединенную пробу. Для этого из 5 флаконов отбирали по 10 см^3 растворителя, помещали в стерильный флакон и перемешивали. Для проведения исследования использовали 5 белых мышей, которым вводили растворитель из объединенной пробы в объеме $0,5 \text{ см}^3$ подкожно в область спины. Назначили период наблюдения сроком 10 дней. Растворитель считали безвредным, если все лабораторные животные оставались живыми и не заболели в течение указанного времени.

Концентрацию водородных ионов растворителя устанавливали с помощью рН-метра типа рН-121 согласно инструкции, приложенной к прибору. Показатель должен находиться в пределах 6,8-7,6.

Результаты исследования. Плотность баксуспензии рожистых бактерий, выращенных на приготовленной питательной среде, составила $3,3 \pm 0,12$ млрд. м.к./ см^3 .

Количество жизнеспособных бактерий после регидратации сухой вакцины приготовленным нами растворителем составило 95,3%.

Результаты контроля качества изготовленного биопрепарата опытной серии и растворителя представлены соответственно в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Показатели качества вакцины сухой живой против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии

Наименование показателей	Результаты исследований
Внешний вид вакцины	Сухая масса в виде таблетки
Цвет вакцины	Беловато-желтый
Наличие механических примесей и других посторонних включений в вакцине	Не допускается
Растворимость вакцины, мин	3
Массовая доля влаги, %	2,5
Контаминация вакцины посторонними микроорганизмами	Не допускается
Морфология вакцинного штамма	Тонкая, прямая или слегка изогнутая, грамположительная палочка, неподвижная, спор и капсул не образует
Количество живых бактерий во флаконе с вакциной вместимостью 5,0	4 млрд. м.к.
Количество доз во флаконе при фасовке вакцины по $5,0 \text{ см}^3$	10
Безвредность вакцины	Вакцина безвредна для голубей, привитых внутримышечно в дозе 150 млн.м.т.

Таблица 2 – Показатели качества растворителя для вакцины опытной серии

Наименование показателей	Результаты исследований
Внешний вид растворителя	Прозрачная жидкость
Цвет растворителя	Светло-желтый
Стерильность растворителя	Рост микрофлоры в посевах из растворителя на питательных средах отсутствует
Концентрация водородных ионов	7,1
Безвредность растворителя	Введение раствора белым мышам не вызывает заболевания и гибели животных в течение срока наблюдения

Заключение. На основании проведенных исследований нами приготовлена вакцина сухая живая против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии с растворителем к ней. По своим показателям биопрепарат и растворитель соответствуют требованиям действующих ТУ.

Литература: 1. Дремач, Г.Э. Эффективность применения депонированной (концентрированной) вакцины против рожи свиней / Г.Э. Дремач // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – Т. 42. – Вып. 2, ч. 1. – С. 72-75. 2. Ездакова, И.Ю. Оценка иммуномодулирующей активности вакцины против рожи свиней (VP-2) в процессе иммуногенеза / И.Ю. Ездакова, Ю.Н. Федоров, И.В. Третьякова // Труды ВИЭВ. – 2003. – Т. 73. – С. 200-204. 3. Разработка новых средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2004. – Т. 40, ч. 1. – С. 245-246. 4. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ветеринарная наука – производству: Науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы вет. медицины в условиях современного животноводства», посвященной 75-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси и 100-летию со дня рождения академика Р.С. Чеботарева. – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 359-361. 5. Совершенствование специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск: УО ВГАВМ, 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 83-85. 6. Специфическая профилактика рожи свиней / Р.В. Душук [и др.] // Ветеринария. – 2002. – № 3. – С. 33-35.

УДК 619: 615.37

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ПУЛСАЛ» ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПОРОСЯТ ОТЪЕМНОГО ПЕРИОДА

Зайцева А.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь

В статье представлены материалы по изучению безвредности препарата «ПулСал» на лабораторных животных и его иммунологической активности на поросятах отъемного периода. В ходе исследований установлено, что препарат является безвредным, оказывает влияние на естественную резистентность организма животных, повышает сохранность и прирост живой массы поросят.

The article contains the data on the safety of the PulSal compound on laboratory animals and its immunological potency on pigs. The compound has proved to be safe, have positive influence on the animals' resistance, increase body weight gain.

Введение. Следует отметить, что эксплуатация животных с целью увеличения их продуктивности, обилие стресс-факторов способствует снижению резистентности животных в результате поражения иммунной системы и механизмов неспецифической защиты. Поэтому встает потребность в коррекции иммунных и ферментных систем. Восстановление функциональной активности иммунной системы является неотъемлемой частью комплексной терапии различных патологических состояний (Е.В. Баева, 1991; Н.Ю. Басова, 2005; П.А. Красочко, 2001).

Ряд ведущих специалистов полагают, что применение иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами может приводить к усилению иммунного ответа, формированию быстрой эндогенной защиты, устранению их иммунодепрессивного действия, стимуляции клеточного звена иммунитета с расширением спектра защиты от микроорганизмов на длительный срок (Е.П. Начарова, 2004; Т.В. Орлов, 2004; Т.А. Семенов, 1989; Э.Н. Шляхов, 1984).

В последнее время широко испытаны препараты на основе бактериальных липополисахаридов для иммунокоррекции у разных видов животных и птиц (М.П. Бабина, 1999, 2001; И.М. Карпуть, 1999; В.В. Ковзов, 1998; П.А. Красочко, 1998; В.М. Проценко, 1998).

Эндотоксин – высокомолекулярный комплекс, локализованный в наружной мембране грамотрицательных бактерий (Н.Д. Movat et al., 1987).

В высоких дозах эндотоксин ведет к необратимому шоку и смерти. С другой стороны, эндотоксин может давать полезные эффекты: неспецифическую активацию клеток иммунной системы (E. Jirillo et al., 1984; H.S. Warren et al., 1988), усиление действия антигенов со слабой иммуногенностью, действие на структуры и функции множества ферментных систем и медиаторов, а также индуцирование неспецифической устойчи-