

УДК619.578.825.1:57.083.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИМД₅₀ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ АУЕСКИ ЖИВОТНЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫМ МЕТОДОМ

Ж.Б. Кондибаева, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории технологии культивирования микроорганизмов, тел. 8(72636)7-22-28, e-mail: ribs@biosafety.kz;

Б.М. Хайруллин, кандидат ветеринарных наук, профессор заместитель генерального директора, тел. 8(72636)7-22-28, e-mail: ribs@biosafety.kz;

У.Ж. Омарбекова, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Биологическая безопасность» Казахский национальный аграрный университет, тел. 8(72636)7-22-28, e-mail: ribs@biosafety.kz

Республика Казахстан, РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» (НИИПББ)

Ключевые слова: вакцина, ИМД₅₀, Ауески, штамм, Кордай. Montanide Gel 01.

В данной работе представлены результаты исследования 50% иммунизирующую дозу вакцины определяли количественным методом контроля на естественно восприимчивых животных против болезни Ауески из штамма «Кордай».

Введение. На сегодняшний день проблемной и актуальной инфекции для Казахстана и Европейских стран по-прежнему остается болезнь Ауески. Данная инфекция относится к списку болезней, подлежащих обязательному оповещению во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ) [1,2].

Отсюда следует, что для борьбы с болезнью Ауески необходимо постоянно проводить профилактические ветеринарно-санитарные мероприятия, основой которых является систематическая и плановая специфическая профилактика вакцинными препаратами [3]. В настоящее время существует тенденция изыскания новых форм вакцин, способных вызывать более ранний иммунитет у привитых животных. Создание раннего поствакцинального иммунитета, прежде всего, зависит от иммунобиологической реактивности организма животного, количественной и качественной характеристики антигенного раздражения. В конечном итоге необходимо разрабатывать вакцины, способные обрывать развитие инфекции в более ранний срок. Общеизвестно, что эффективность вакцины зависит от антигенной активности производственных

штаммов возбудителей, выбора их типов и чувствительной системы для их репродукции, степени очистки и концентрации антигенов, входящих в состав биопрепарата, метода инактивации и оптимального соотношения адъюванта, стимулирующего процессы иммуногенеза. Кроме того, биологическая активность препарата определяется по уровню поствакцинальных антител и количеством специфического белка иммуногенного антигена, являющегося одновременно единицей стандартизации, от которого зависит величина прививочной дозы [3,4].

В настоящее время наряду с $ИмД_{50}$ (иммунизирующая доза) препараты вирусных вакцин характеризуют количеством специфического антигена в единице объема прививной дозы, выраженного в микрограммах. Эта величина позволяет оперировать не объемом прививной дозы, а количеством специфического антигена [5]. С целью получения стандарта характеристики использовали метод корреляции между физическим содержанием очищенного антигена вируса болезни Ауески, штамм Кордай (выделен из свиньи на территории Республики Казахстан), измеренным биохимическими методами (метод Лоури), и титром антигена в этом препарате, измерение в РН. Для построения коррелятивной зависимости между количеством антигена вируса болезни Ауески в единице объема и его титром в РН получали высокоочищенные препараты вирионов. Использовали вирус болезни Ауески, выращенный роллерным способом. Очистку и концентрирование проводили с помощью осаждения ПЭГ, с последующим низкоскоростным центрифугированием. Полученные калибровочные зависимости позволяют определять количество антигена вируса болезни Ауески в препаратах вакцин и могут быть использованы при количественной оценке прививной дозы вакцины. Титр вируснейтрализующих антител в сыворотках крови привитых животных определяли в реакции нейтрализации на культуре клеток ВНК-21 (почки сирийского хомяка) с использованием двукратных разведений сыворотки и постоянной дозой вируса (штамм "Кордай", 100-1000 ТЦД₅₀/мл) [6].

Целью наших исследований являлось изучение 50% иммунизирующую дозу ($ИмД_{50}$) вакцины против болезни Ауески (БА).

Объекты и методы исследований. В работе применяли инактивированную вакцину, приготовленную из культурального вируса, штамм «Кордай», очищали от клеточного детрита, инактивировали формалином (содержание активного формальдегида 37–38%) в конечной концентрации 0,8% при температуре 37°C в течение 96 часов при периодическом помешивании, концентрировали антигены вирусов

с помощью ПЭГ-6000 до конечной концентрации 3% в течение 24 часов при температуре 4°C, адсорбированного на гидроксиды алюминия и содержащую в качестве дополнительного адъюванта Montanide Gel 01. Расчет 50% иммунизирующей дозы (ИмД₅₀), проводили по формуле Кербера-Ашмарина [7].

$$\text{ИмД}_{50} = \lg D_n - \lg G (\Sigma - I - \text{где: } 0,5),$$

$\lg D_n$ – максимальный из испытанных доз;

$\lg G$ – логарифм кратности дозы вакцин;

Σ – сумма значений;

I – число выживших животных;

N – количество животных в опыте.

Результаты исследований. Для проведения исследований использовали экспериментальной серий вакцины против болезни Ауески и ИмД₅₀ вакцины изучали на восприимчивых животных. С этой целью использовали четыре группы животных, которых прививали вакциной, приготовленной из исследуемого вируса в цельном виде и в разведениях 1:3, 1:9 и 1:27. Через 14 сут после вакцинации всех привитых и пятую контрольную группу животных заражали вирулентным вирусом болезни Ауески в дозе 10ЛКД₅₀/см³ для КРС, овец и свиней и 10⁴ЛКД₅₀/см³ для щенков. Крупный рогатый скот, овец и щенков иммунизировали и заражали подкожно, а свиней вакцинировали внутримышечно и заражали подкожно. За животными вели клиническое наблюдение в течение 21 сут после заражения. Выживших животных считают иммунными.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Данные таблицы 1 показывают, что все вакцинированные животные были невосприимчивы к подкожному введению вирулентного вируса болезни Ауески, клинических признаков заболевания не отмечалось. Контрольные животные пали на 5-11 сут после заражения. ИмД₅₀ вакцины равнялось 0,052см³ для КРС, овец и свиней и 0,021см³ для щенков. В прививном объеме содержалось более 38 ИмД₅₀ для КРС, овец, свиней и 47 ИмД₅₀ для щенков. Резюмируя вышеуказанное, следует отметить, что однократная иммунизация вакцины в разведениях 1:3, 1:9 и 1:27 предохраняет животных от контрольного заражения вирусом болезни Ауески. Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у животных к вирусу болезни Ауески через 21 сутки после введения продолжительностью не менее 12 месяцев после двукратного применения. В одной иммунизирующей дозе вакцины содержится не менее 7,0 lg ТЦД50 вируса болезни Ауески штамма «Кордай».

Отработан количественный метод контроля активности вакцины

Таблица 1 - Определение 50% иммунизирующей дозы инактивированной вакцины против болезни Ауески для разных видов животных.

Вид животных	Прививной объем (см ³)	Разведение вакцины			ИмД ₅₀ /см ³	Количество ИмД ₅₀ /см ³ прививном объеме
		1:3	1:9	1:27		
КРС	2	2/2	2/2	2/2	0,052	38
Овцы	2	2/2	2/2	2/2	0,052	38
поросята	2	2/2	2/2	2/2	0,052	38
щенята	1	2/2	2/2	2/2	0,021	47

Примечания: 1. Числитель - количество защищенных животных.
2. Знаменатель – количество животных в опыте.

путем определения 50%-х иммунизирующих доз (ИмД₅₀), расчета количества в одном прививном объеме. Данная методика позволяет стандартизировать вакцины и выпускать высокоиммуногенной препарат. Разработанная вакцина является универсальной и пригодна для иммунизации всех восприимчивых к заболеванию животных.

Выводы. Экспериментальные серии вакцины против болезни Ауески, для проведения сравнительных испытаний различных доз био-препарата, безвредны, стерильны, обладают антигенной активностью и индуцируют формирование гуморального иммунного ответа у животных. В экспериментальных условиях определены прививочные дозы для различных животных, которые при соблюдении технологических требований по изготовлению и биологического контроля вакцины, обеспечивают напряженный иммунный ответ после двукратной иммунизации животных.

Библиографический список:

1. Официальный веб-сайт Всемирной Организации Здравоохранения <http://who.int>.
2. Доклады рабочих групп по всемирной системе раннего предупреждения, мероприятиям регионального характера и доверительным фондам. Трехсторонняя встреча ВОЗ/ФАО/МЭБ, Париж, 4-5 февраля 2003 г.- Париж. - 2003.
3. Дудников А.И. Количественная оценка иммуногенности инактивированной вакцины против болезни Ауески на свиньях / А.И.Дудников, В.А. Мищенко, А.Ф. Бондаренко и др. //Вопр. вет. вирусол. микробиол. эпизоотол.: Мат. науч. конф. ВНИИВиМ. Покров, 1992,-Ч.1. - С.194-195.

4. Простяков А.П. Контроль и стандартизация средств специфической профилактики и диагностики инфекционных болезней животных /Простяков А.П., Селиванов А.В., Цыганкова С.И. и др. // Сб. науч. тр. ВГНКИ.-С.125-127.
5. Сергеев В.А. Контроль иммуногенности инактивированных вакцин против болезни Ауески / В.А. Сергеев, Н.А. Измайлова, Ю.В. Лаптев // Ветеринария. - 1992. -№7-8. - С.19-21.
6. Кондибаева Ж.Б., Маликова Л.В., Хайруллин Б.М. Оценка эффективности различных методов концентрирования вируса болезни Ауески// Акт. пробл. вирусол. Тез. докл. науч. конф.18-20 мая 1994 г. – Ч.1. – Гвардейский: 1994. - С. 62.
7. Ашмарин И.П. Статистические методы микробиологических исследований. / И.П.Ашмарин, А.А.Воробьева -Л.: Наука. - 1962.-180 с.

DEFINITION IMD₅₀ VACCINE AGAINST AUJESZKY'S DISEASE ANIMAL QUANTITATIVE METHODS

G. Almaty. Kondybaeva, B. M.: Khairullin, W. Almaty Omarbekov

Keywords: *Vaccine, ИмД₅₀, Aujeszky's, the strain, Korday. Montanide Gel 01.*

This paper presents the results of a study of 50% of the immunizing dose of the vaccine was determined by a quantitative method of control on susceptible animals against Aujeszky's disease from the strain "Kordai".