

УДК 619:578.831.21:578.821.21

Аманова Ж.Т., магистр биологических наук, научный сотрудник

Таранов Д.С., магистр биологических наук, старший научный сотрудник

Жугунисов К.Д., магистр ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Кондибаева Ж.Б., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Баракбаев К.Б., кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией

Булатов Е.А., кандидат биологических наук, заведующий лабораторией

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, п.г.т Гвардейский, Республика Казахстан

БЕЗОПАСНОСТЬ И РЕАКТОГЕННОСТЬ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И ОСПЫ ОВЕЦ

Аннотация

В статье представлены результаты исследований по определению безопасности и реактогенности ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец. Безопасность и реактогенность ассоциированной вакцины определяли на лабораторных (кролики, белые мыши) и естественно восприимчивых животных (овцы), методом подкожного введения вакцины в дозе в 100 раз превышающую иммунизирующую дозу. После вакцинации проводили ежедневное клиническое наблюдение за опытными мышами в течение 10 сут, и за овцами и кроликами в течение 14 сут. Вакцину считали безвредной, если она не вызывала гибели овец и каких-либо клинических признаков заболевания и патологических изменений в месте инъекций у овец, кроликов и белых мышей. При этом, допускается у некоторых животных (овцы) повышение температуры тела до 41,0 °С в течение 1-4 сут. и у части (до 20 %) животных (кролики, овцы) образование на месте введения вакцины воспалительного отека в виде уплотнений (на 3-6 сут). Результаты проведенных опытов показали, что подкожное введение ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец не вызывает реактогенности и нежелательных явлений в организме испытываемых животных. На основе анализа полученных результатов установлено, что ассоциированная вакцина против чумы мелких жвачных животных и оспы овец является безвредной и ареактогенной для белых мышей, кроликов и овец.

***Ключевые слова:** ассоциированная вакцина, безопасность, реактогенность, оспа овец, чума мелких жвачных животных.*

Введение. Современное животноводство характеризуется широким внедрением интенсивных форм производства. Специфика сложившейся технологии содержания и кормления животных существенно изменили их среду обитания. Большая концентрация животных на ограниченных площадях, поступающих из различных в эпизоотическом отношении регионов, широкий обмен животными внутри страны и завоз из-за рубежа их высокопродуктивных племенных пород, трудности организации непрерывного производства, полноценного кормления и обеспечения оптимального микроклимата создают благоприятные условия для возникновения массовых инфекционных болезней [1]. К числу таких опасных инфекционных болезней животных относятся чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) и оспа овец (ОО). Указанные болезни, обладая чрезвычайно высокой контагиозностью, имеют тенденцию к быстрому и широкому распространению, серьезно препятствуют сохранению и увеличению численности поголовья мелких жвачных животных, повышению продуктивности и

улучшению качества получаемой продукции, оказывают существенное воздействие на экономику страны.

В странах дальнего и ближнего зарубежья многие регионы являются неблагополучными по указанным заболеваниям, которые могут протекать одновременно, как в 2018 г. Израиле [2, 3]. Следовательно, при одновременной регистрации разных инфекций требуется провести профилактические мероприятия против каждой из них, что могло бы найти свое решение с использованием комплексной и ассоциированной иммунизации.

В связи с этим, в последние годы большое значение придается разработке ассоциированных вакцин против ЧМЖЖ и ОО, так как данные заболевания представляют реальную опасность для животноводства многих стран, нанося ощутимый экономический ущерб во время эпизоотий.

Известно, что ассоциированные вакцины, составленные с учетом возможности незначительного повреждающего действия при достаточно высокой иммуногенности и оптимальности доз компонентов, входящих в этот препарат, отличаются рядом преимуществ от моновакцин и находят все более широкое применение ветеринарной практике. Основным преимуществом ассоциированных вакцин является: создание у животных напряженного и продолжительного иммунитета одновременно к нескольким возбудителям, сокращение количества вакцинаций и стрессовых факторов, снижение трудозатрат на проведение иммунизации [4, 5].

Ранее сообщалось, что разработанные в других странах ассоциированные вакцины против ЧМЖЖ и ОО обладали высокой иммуногенностью и безопасностью для мелких жвачных животных. С учетом литературных данных [6, С. 21-24; 7, С. 266-271; 8, С. 6058-6064; 9, С. 7212-7217; 10, С. 28-32; 11, С. 2548-2553] в Казахстане в лице РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК (НИИПББ), также как и в других странах была разработана ассоциированная вакцина для одновременной профилактики ЧМЖЖ и ОО.

В основном при разработке ассоциированных вакцин ветеринарных специалистов интересует вопрос: не будет ли ассоциированная вакцина при применении обладать излишней реактогенностью и оказывать вредное влияние на прививаемый организм.

Исходя из этого, целью настоящих исследований было определение реактогенности и безопасности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО на животных.

Материалы и методы исследований.

Приготовление вакцины. На основе штамма «Nigeria-75/1» вируса ЧМЖЖ и штамма «НИСХИ» вируса ОО приготовлены лабораторные серии сухой культуральной ассоциированной вакцины. Для получения вирусной биомассы ЧМЖЖ и ОО, проводили отдельное культивирование вирусов с использованием культуры клеток Vero, выращенных в матрасах стационарным методом. Культуру клеток инфицировали данными штаммами в дозах 0,01 и 0,1 ТЦД₅₀/кл, соответственно и выдерживали при температуре 37 °С в течение 1 часа, для контакта монослоя клеток с вирусом. По истечению контакта в матрасы с культурой клеток вносили поддерживающую среду ПСП, с содержанием 2 % инактивированной сыворотки КРС и 1 % глутамин в объеме 1/10 части матраса и культивировали в течение 6-9 сут. Ежедневно проводили визуальный контроль под световым микроскопом для обнаружения характерных деструктивных изменений в монослое клеток. По достижению цитопатического действия в монослое культуры клеток на 80-90 % матрасы замораживали при минус 20 °С с последующим оттаиванием при комнатной температуре в течение 12-18 часов. Полученные суспензии вирусов ЧМЖЖ и ОО объединяли 1:1 и добавляли защитную среду, охлажденную до 4 ± 1 °С, в соотношении 1:1, с добавлением антибиотиков.

Содержимое сосуда тщательно перемешивали и разливали по 2,0 см³ в стерильные ампулы. Затем ампулы помещали в металлические кассеты и проводили лиофилизацию в сублимационной установке с последующим оттаиванием под вакуумом. До использования ампулы с вакциной хранили при минус 20⁰С.

Определение безвредности и реактогенности вакцины. Для определения безвредности и реактогенности брали 10 ампул с вакциной. В каждую ампулу вносили стерильный физиологический раствор в объеме, равном объему до высушивания вакцины. После растворения содержимое всех ампул переносили в стерильный флакон и тщательно перемешивали. Полученную смесь использовали для испытания без дополнительного разведения.

Ассоциированную вакцину испытывали на овцах (3 гол.), кроликах (3 гол.) и белых мышах (5 гол.), методом подкожного введения вакцины в дозе в 100 раз превышающую иммунизирующую дозу. Овцам вакцину вводили в исходном разведении в объеме 5,0 см³ (125000 ТЦД₅₀/см³), взрослым кроликам в объеме 1,0 см³ (25000 ТЦД₅₀/см³) и белым мышам в объеме 0,1 см³ (2500 ТЦД₅₀/см³). За испытанными животными вели ежедневное клиническое наблюдение, осматривая место аппликации и общее состояние животных, у овец и кроликов с измерением температуры тела в течение 14 сут.

Оценка результатов исследований. Вакцину считали безвредной, если она не вызывала гибели овец и каких-либо клинических признаков заболевания и патологических изменений в месте инъекций у овец в течение 14 сут, у кроликов и белых мышей в течение 10 сут. При этом, допускается у некоторых животных (овцы) повышение температуры тела до 41,0 °С в течение 1-4 сут. и у части (до 20 %) животных (кролики, овцы) образование на месте введения вакцины воспалительного отека в виде уплотнений (на 3-6 сут).

Результаты исследований. В результате испытаний ассоциированной вакцины ЧМЖЖ и ОО на естественно восприимчивых животных (овцы) показали, что общее клиническое состояние вакцинированных овец в течение срока наблюдения было в пределах нормы кроме уплотнений в месте введения вакцины у 2-х овец, которая постепенно исчезала в течение 3-5 сут. У овец на протяжении всего срока наблюдения не отмечалось повышения температуры тела (рисунок 1).

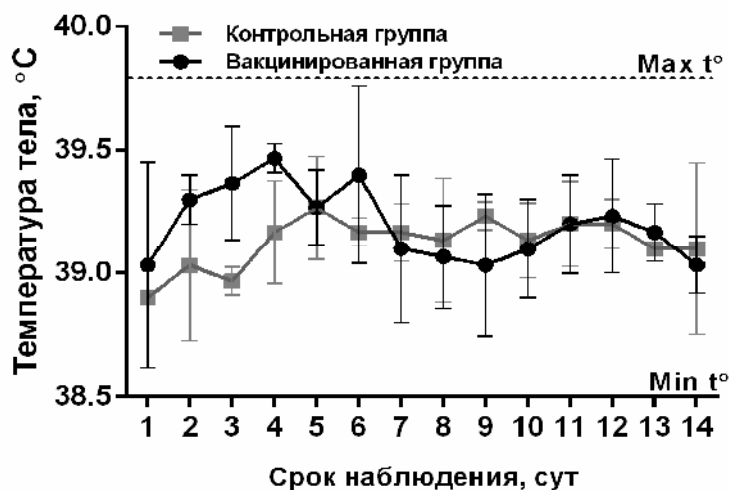


Рисунок 1 – Динамика изменения температуры тела овец, находившихся в опыте по определению безвредности и реактогенности ассоциированной вакцины

Введение ассоциированной вакцины кроликам также не вызывало повышения температуры тела и признаков отклонения от физиологической нормы в течение 14 сут (срок наблюдения), кроме припухлостей до 1,5 см³ в местах аппликации образцов вакцины, которые рассасывались в течение 4-6 сут. (рисунок 2).

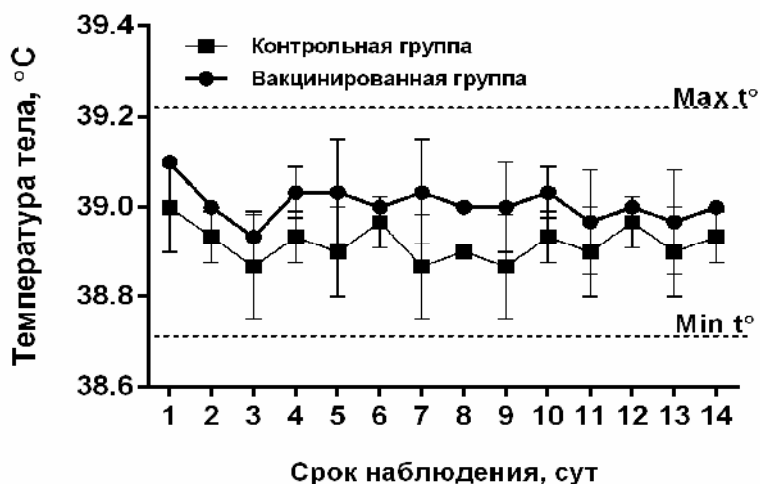


Рисунок 2 – Динамика изменения температуры тела кроликов, находившихся в опыте по определению безвредности и реактогенности ассоциированной вакцины

При оценке безопасности и реактогенности вакцины на лабораторных мышах различия по массе тела между вакцинированными и контрольными группами не отмечалось. На протяжении периода наблюдения общее состояние и поведение животных опытной группы было нормальным, и соответствовало клинически здоровому состоянию животных (рисунок 3).

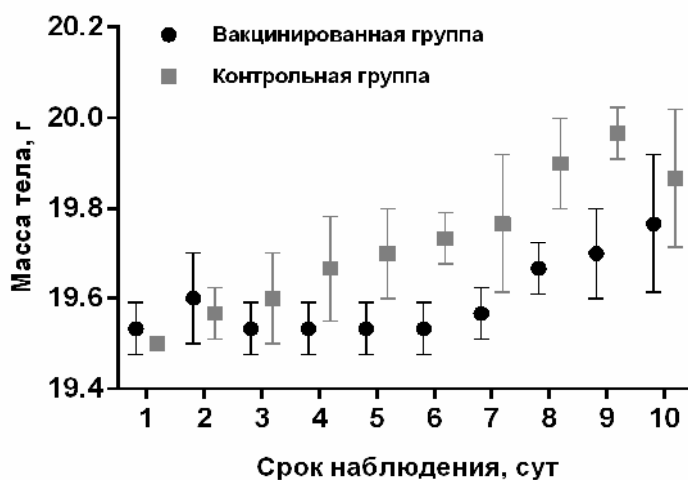


Рисунок 3 – Масса тела белых мышей, находившихся в опыте по определению безвредности и реактогенности ассоциированной вакцины

Анализ полученных результатов свидетельствует, что при подкожном введении ассоциированной вакцины животным не выявлены признаки отклонения от физиологической

нормы, повышенная температурная реакция либо другие побочные действия препарата на организм животных.

Таким образом, установлено, что ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ и ОО является безвредной и ареактогенной для белых мышей, кроликов и овец.

Обсуждение полученных данных. Предпосылкой для разработки ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и оспы овец послужили литературные данные [6, с. 21-24; 7, с. 266-271; 8, с. 6058-6064; 9, с. 7212-7217; 10, с. 28-32, 11; с. 2548-2553], свидетельствующие о том, что применение ассоциированных вакцин в сравнении с многократными прививками различными монопрепаратами имеет несомненные преимущества в плане значительного сокращения времени на создание иммунитета одновременно к нескольким инфекциям и совершенствования громоздких схем профилактических прививок.

На фоне вышеперечисленных положительных качеств, вакцинные препараты, в том числе и ассоциированные, наряду с высокой эффективностью должны обладать достаточной безвредностью и ареактогенностью, так как безвредность и реактогенность вакцин на сегодняшний день становятся главнейшим условием их применения.

Общеизвестно, что при определении безвредности и реактогенности вакцин, у животных возможно появление отеков в местах аппликации и умеренная лихорадочная реакция после применения вакцины, которые считаются приемлемыми последствиями вакцинации. Но могут возникнуть и более серьезные осложнения, зависящие от вакцины или от прививаемого организма. Вакцинируемое животное может обладать повышенной чувствительностью к примеси какого-либо белка, загрязняющего вакцину или страдать иммунологической недостаточностью. В то же время, возможно загрязнение вакцины посторонними белками или токсинами и даже живыми вирусами и т.д., которые могут отрицательно влиять на прививаемый организм [12].

Поэтому при определении безвредности и реактогенности профилактических препаратов должны осуществляться комплексные научно-практические исследования, позволяющие получить четкое представление о состоянии различных сторон специфической и неспецифической реактивности организма и объективно оценить профилактические возможности вакцин.

С этой целью провели исследования по определению безвредности и реактогенности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО на лабораторных (кролики, белые мыши) и естественно восприимчивых животных (овцы). Проведенные исследования показали, что при применении ассоциированной вакцины в дозе, превышающей иммунизирующую дозу приблизительно в 100 раз, у животных не регистрировали каких-либо клинических нарушений в течение всего срока наблюдения (14 сут).

Полученные экспериментальные данные по определению безвредности и реактогенности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО свидетельствуют о безопасности разработанной вакцины для животных, что согласуются с данными других ученых, чьи исследования связаны с разработкой ассоциированных вакцин против ЧМЖЖ и ОО [6, с. 21-24, 7, с. 266-271, 8, с. 6058-6064, 9, с. 7212-7217, 10, с. 28-32, 11, с. 2548-2553, 12, с. 33-37]. К тому же следует отметить, что полученные в институте аттенуированные штаммы «НИСХИ» вируса ОО и «Nigeria-75/1» вируса ЧМЖЖ, которые являются одним из компонентов потенциальной ассоциированной вакцины, менее реактогенны и безвредны по сравнению с другими штаммами данных вирусов. В наших экспериментах не обнаружено ни одного случая повышения температуры тела и отклонения от физиологической нормы. Следовательно, ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ и ОО из штаммов «Nigeria-75/1» и «НИСХИ» соответственно, является менее реактогенной и безвредной для овец, кроликов и белых мышей.

Вывод. По результатам проведенных исследований по изучению безвредности и реактогенности экспериментальной ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО на лабораторных животных (кролики и белые мыши) и естественно восприимчивых животных (овцы) установлено, что ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ и ОО является ареактогенной и безвредной для овец, кроликов и белых мышей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ефимова, М.А. Разработка ассоциированной вакцины и иммуноферментных тест-систем на основе антигенов парво-, рео-, герпесвирусов и вируса вирусной диареи крупного рогатого скота : дис. ... док. биол. наук: 06.02.02 / ФГБУ - Федеральный Центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. – Казань, 2014. – 308 с.
2. Эпизоотическая ситуация в мире по данным МЭБ [Электрон. ресурс]. - 2018. - URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/foreign/2018/september/country.pdf> (дата обращения: 03.12.2018).
3. Эпизоотическая ситуация в мире по данным МЭБ [Электрон. ресурс]. - 2018. - URL: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/self-declared-disease-status/> (дата обращения: 03.12.2018).
4. Фролов, С. В. Разработка ассоциированной вакцины против инфекционного бронхита кур и ньюкаслской болезни: дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Всероссийский научно - исследовательский институт защиты животных Минсельхозпрода РФ. – Владимир, 2000. – 172 с.
5. Нарымбетова У. М., Толысбаев Б. Т., Мырзабекова Ш. Б. Изучение моно- и ассоциированной иммунизации на кроликах // 1-й Международный ветеринарный конгресс. - Алматы, 2002. - С. 37-42
6. Балышев В. М., Париков С. В., Калантаенко Ю. Ф., Горшкова Т. Ф., Жуков А. Н., Гарькин А. В., Анисимова Л. И. Разработка ассоциированной вакцины против оспы овец и чумы мелких жвачных животных // Ветеринария. -2010. - №9. - С. 21-24
7. Мороз Н. В., Диев В. И., Капускин Е. В., Кукушкина М. С. Изучение антигенных и иммуногенных свойств экспериментальной ассоциированной вакцины против оспы овец, оспы коз и чумы мелких жвачных // Инфекционная патология животных, посвященной 50-летию ФГУ «ВНИИЗЖ»: матер. междунар. науч. конф. - Владимир, 2008. - С. 266-271.
8. Hosamani M., Singh S.K., Mondal B. A bivalent vaccine against goat pox and peste des petits ruminants induced protective immune response in goats // Vaccine. – 2006. – Vol. 24. - P. 6058-6064.
9. Ayalet G., Fasil N., Jembere S., Mekonen G., Negussie T.S.H. Study on immunogenicity of combined sheep and goat pox and peste des petits ruminants vaccines in small ruminants in Ethiopia // Afr. J. Microbiol. Res.- 2012.- Vol. 6. - P. 7212-7217.
10. Константинов А. В., Старов С. К., Диев В. И., Мороз Н. В., Курненко Е. В., Басова Д. К., Кононов А. В., Федосеев К. Ю., Мельников В. П. Антигенная и протективная активность ассоциированной вирусвакцины против оспы овец, оспы коз и чумы мелких жвачных // Ветеринария сегодня. – 2017. – №3. - С. 28-32
11. Chaudhary S.S., Pandey K.D., Singh R.P. A Vero cell derived combined vaccine against sheep pox and peste des petits ruminants for sheep // Vaccine. – 2009. – Vol. 27. - P. 2548-2553.
12. Кондибаева Ж.Б. Оценка реактогенности и безвредности инактивированной вакцины против болезни Ауески // Интернет-журнал. – 2018. – №4. - С. 22-35.

ТҮЙІН

Мақалада ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы мен қой күліне қарсы вакцинасының қауіпсіздігі мен реактогенділігін анықтау бойынша зерттеулер нәтижелері көрсетілген. Қауымдастырылған вакцинаның қауіпсіздігі мен реактогенділігін зертханалық (қояндар, ақ тышқандар) және табиғи сезімтал жануарларға (қойлар) иммундеуші дозаның 100 есе мөлшерінде тері астына егу әдісі арқылы анықталынды. Вакцина егілгеннен кейін сынақтағы тышқандарға 10 күн бойы және қой мен қояндарға 14 күн бойы күнделікті клиникалық байқау жүргізілді. Вакцина, қойлар, қояндар және ақ тышқандардың инъекция орнында патологиялық өзгерістердің және аурудың клиникалық белгілерін пайда болуына және қойлардың өлуіне себеп болмаған жағдайда қатерсіз деп саналды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде, тері астына егілген ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы мен қой күліне қарсы қауымдастырылған вакцина, сынақтағы жануарлардың ағзасында реактогенділік пен жағымсыз әсер тудырмайды. Алынған нәтижелерді талдау негізінде ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы мен қой күліне қарсы қауымдастырылған вакцинаны ақ тышқандар, қояндар мен қойлар үшін қауіпсіз және реактогенділігі жоқ деп танылды.

RESUME

The article presents the results of research on of determine the safety and reactogenicity of the associated vaccine against the peste des petits ruminants and sheep pox. Safety and reactogenicity of associated vaccine determined on laboratory animals (rabbits, white mice) and naturally susceptible animals (sheep), by the method of subcutaneous administration of the vaccine in a dose 100 times the immunizing dose. Conducted daily clinical observation behind of the experienced mice for 10 days, and for sheep and rabbits for 14 days. The vaccine was considered harmless if it did not cause the death of the sheep and any clinical signs of disease and pathological changes at the injection site in the sheep for 14 days, in rabbits and white mice for 10 days. The results of the experiments showed that the subcutaneous administration of the associated vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox does not cause reactogenicity and adverse events in the body of the experienced animals. Based on the analysis of the results obtained, it was found that the associated vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox, is harmless and not reactogenic for white mice, rabbits and sheep.