

қорғаныш реакциясы болып табылады. Штаммның споралы формалары қолайсыз ортада дамиды. Сол себепті біз жасанды қоректі ортаға микроорганизмдердің өсіп-өнуі үшін Хоттингер сорпасын әртүрлі пайыздық деңгейде қостық. Хоттингер сорпасының пайыздық деңгейі көп болған жағдайда вакцина штаммның споралары вегетативтік формаға тез ауысып кететіні байқалды. Ал, Хоттингер сорпасының пайыздық мөлшері аз болған жағдайда, микроорганизмдер үшін қолайсыз жағдай туып, оған қорғаныш реакциясы ретінде споралы түрлері көп түзіледі. Ұсынылып отырған қоректің ортада әзірленген вакцинаның тәжірбиелік сериясының иммуногендік қасиеті теңіз тышқандары мен қойларда жүргізілген зерттеулерде жоғары деңгейде болып ТШ-640РК00482536-РГП-06-99 Техникалық шартына сәйкес болды. Әзірленген вакцинаға нормативті құжаттар атап айтқанда, техникалық шарты, вакцинаны дайындау және тағайындау жөнінде нұсқау және қолдану жөніндегі ереже әзірленді. Жоғарыда аталған құжаттар ҚР АШМ тіркеліп, тіркеу жөніндегі куәлік алынды (№1-БВС-я-1-2000). Біз ұсынған технология бойынша жасалған вакциналар еліміздің мал шаруашылығы объектілерінде қолданылған. Вакцина сапасына ешқандай наразылық болған жоқ.

RESUME

Studies have shown that the most suitable culture medium for cultivation of the anthrax vaccine strain 55 VNIIVViM is the nutrient medium №3. This environment contributed to the greatest accumulation of viable spores. The effects of the anthrax pathogen are typical for capsule forms. The spore-like form is a protective reaction of the pathogen. Spore-like forms of strains develop in an unfavorable environment. Therefore, for the growth of microorganisms, Hottinger broth was added to the artificial nutrient medium in different percentages. It has been observed that with a high percentage of Hottinger broth the spores of the vaccine strain quickly turn into a vegetative state. With low percentage of Hottinger broth creates an unfavorable environment for organisms and protective reaction starts in the form of spore formation. Manufactured experimental-industrial series of vaccines based on the use of this medium had greater immunogenic activity in the experiment on Guinea pigs, sheep and met the requirements of technical conditions TU-640RK00482536-RGP-06-99. The following documents were prepared for this vaccine: regulatory and technical documentation, technical conditions, instructions for designation and control, instructions for use. The above documents are registered in the Ministry of agriculture of the Republic of Kazakhstan and a certificate of registration is received (№ 1-BVS-I-1-2000). According to our proposed technology, vaccines were used in the country's livestock facilities. There were no complaints about the quality of the vaccine.

УДК 619: 616. 981. 51

Айтжанов Б.Д., доктор ветеринарных наук, профессор
Кульдеев А.И., кандидат ветеринарных наук, профессор
Сиябеков С.Т., кандидат ветеринарных наук, профессор
Сырым Н.С., кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель
НАО «Казахский национальный аграрный университет», г. Алматы, Республики Казахстан

РАЗРАБОТКА ВАКЦИНЫ «АНТРАКСВАКС» ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ

Аннотация

Известна вакцина против сибирской язвы животных содержащей штамм 55-ВНИИВВиМ. Основные недостатки этой вакцины заключаются в недостаточной защитной силе вакцины при возникновении заболевания

Разработанная противосибирезвенная вакцина «Антраксвакс» отличается высокой иммуногенностью, а также низкой вирулентностью и реактогенностью для прививаемых животных. Выращивание вакцинного штамма на плотной казеиново-дрожжевой среде немного снижает себестоимость изготавливаемого препарата.

Для изготовления вакцины использовали бескапсульный сибирезвенный штамм 55-ВНИИВВиМ, обладающий типичными культурально-морфологическими, тинкториальными и биохимическими свойствами. Штамм не патогенен для морских свинок и кроликов и слабовирулентен для белых мышей.

Ключевые слова: *дезинтеграция, континент, концентрация, шуттелирование, тинкториальный, ампула.*

Введение. Сибирская язва относится к числу очень опасных инфекционных болезней, поражающая все виды сельскохозяйственных животных и многочисленные виды диких животных. Болеют сибирской язвой и человек. Источником возбудителя болезни служат больные животные. Современный ареал сибирской язвы животных охватывает все континенты. Заболевания не регистрируется лишь на крайнем севере Американского континента, а так же на немногочисленных островных территориях. Уровень заболеваемости животных сибирской язвой и, стало быть, напряженность эпизоотической ситуации в отдельных регионах мира и нашей страны не равномерно. Хотя согласно статистической отчетности случаи и вспышки болезни регистрируется не достаточно полно, географическое распространение сибирской язвы среди животных в основном коррелируется показателями заболеваемости [1-3].

Такое положение объясняется тем, что еще не до конца выяснены и, соответственно, не учитываются при проведении профилактических мероприятий все факторы, оказывающие влияние на возникновение и распространение этого заболевания. Требуют совершенствования методы и средства прижизненной и постмортальной диагностики сибирской язвы, определение устойчивости животных к заболеванию в зависимости от их возраста и влияния факторов внешней среды, определение эпизоотологической эффективности применения специфических вакцин, а также разработка прогноза возможных изменений эпизоотической ситуации, что является одной из важнейших задач эпизоотологии, так как это позволяет определять целесообразность, своевременность и наиболее рациональную схему проведения соответствующих мероприятий.

Известно, что эпизоотический процесс развивается под влиянием комплексов природных и социально-экологических факторов. Поэтому очевидно необходимость более детального изучения особенностей проявления сибирской язвы в разных регионах Казахстана, характеризующихся своеобразием природно-географических и хозяйственных условий. В связи с чем мы провели ретроспективный анализ случаев заболеваний животных сибирской язвой, который показал, что вспышки этой инфекции зарегистрированы во всех областях страны. Результаты статистико-математической обработки и анализ динамических рядов показателей проявления эпизоотического процесса в целом по Казахстану и в разных областях свидетельствуют о наличии устойчивой тенденции снижению количества вспышек и заболевших животных.

Сибирскую язву регистрировали в одних областях лишь в отдельные годы и в единичных случаях, в других почти ежегодно. Имеются существенные различия распространенности болезни и внутри областей, то есть в каждой области выделяются административные районы, которые определяют общий характер ситуации. Например, в одной из самых неблагоприятных по сибирской язве Южно – Казахстанской области свыше 80% случаев болезни зарегистрировано на территории пяти административных районов, в то время как в некоторых районах наблюдались лишь единичные случаи сибирской язвы. В западно-Казахстанской области вспышки сибирской язвы чаще всего регистрируются в 4 районах из 16. Аналогичная ситуация и в других областях Казахстана, а в некоторых административных районах сибирскую язву в течение анализируемого периода (свыше 60 лет) вообще не регистрировали.

Дальнейший анализ эпизоотологических данных показал, что неравнозначными потенциальной опасностью имеющих неблагоприятных пунктов. Их количество с высокой потенциальной активностью (более 4 вспышек) больше всего в Южно-Казахстанской (свыше 50 пунктов), Семипалатинской (свыше 40), Жамбылской (свыше 20) областях, то есть на тех же территориях, которые выделялись по общему числу учтенных неблагоприятных пунктов. Такое

совпадение свидетельствует о необходимости определения степени неблагополучия любой территории с учетом не только количества, но и активности стационарных эпизоотических очагов. Имеются неблагополучные пункты, где за последние годы не зарегистрированы ни одного случая сибирской язвы. Вышеуказанное свидетельствует о наличии закономерной приуроченности сибирской язвы к определенным местностям, и это, по-видимому, объясняется способностью возбудителя инфекции сохраняться в почве в активном состоянии лишь при наличии условий, обеспечивающих их вегетацию [4].

Заболевание животных сибирской язвой наблюдается в основном в июне, июле и августе. На эти месяцы приходится около 70% количества вспышек за год, что примерно согласуется с данными других исследователей. Более детальное изучение проявления эпизоотического процесса показало, что имеются небольшие различия в сроках наступления пика и заболеваемости в разрезе областей [5].

Число вспышек сибирской язвы зарегистрированных в январе, феврале, марте, значительно ниже среднегодового уровня. В апреле-мае их число постепенно возрастает, в июне превышает среднее значение и достигает максимума в июле-августе. В дальнейшем идет спад интенсивности эпизоотического процесса, а в ноябре-декабре происходит возвращение к уровню, характерному для начало года. Такая сезонность возникновения вспышек сибирской язвы характерна для крупного и мелкого рогатого скота. Кривая сезонности сибирской язвы лошадей имеет двух вершинный характер. Вначале с марта идет нарастание числа вспышек и в июне превышает среднегодовое значение (первый цикл), в июле показатель несколько снижается, но в августе вновь резко возрастает (второй цикл), и спад ниже среднегодового уровня отмечается с октября месяца [6, 7].

С начала внедрения вакцины плановые профилактические противосибирязвенные и мероприятия позволили сократить в сотни раз количество вспышек этого заболевания и число заболевших животных. Но сезонность по сравнению с довакциным периодом сохранилась почти без изменений. Все это свидетельствует о том, что сезонность проявления сибирской язвы в Казахстане можно рассматривать как закономерность. На эту особенность эпизоотического процесса сибирской язвы указывали многие исследователи и объясняют ее повышением риска заражения животных на пастбище, когда они тесно соприкасаются с инфицированной почвой и подвергаются нападению кровососущих насекомых.

В системе мер борьбы с этой инфекцией большое значение имеет проведение эпизоотологического анализа и предохранительных прививок с применением вакцин [8, 9].

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в Алматинском биокombинате и на кафедре «Клиническая ветеринарная медицина» ветеринарного факультета КазНАУ. В качестве питательной среды использовали казеиново-дрожжевой агар. Для получения протективного антигена бульонную культуру вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ и засеивали на матрасные колбы с 3% агаром. Выросшую культуру снимали шпателем и готовили 5 млрд. спорую взвесь. Полученную взвесь подвергали воздействию ультразвуковых волн до просветления. По окончании озвучивания микробный дезинтеграт растворяли физиологическим раствором 1:150-1:250.

Результаты и обсуждение. Иммуногенная активность вакцин зависит от ряда причин, таких как особенности биологии микроорганизмов, влияние физико-химических факторов при инактивации, подбор и изготовление питательных, защитных сред, адьювантов, адсорбентов, иммуностимуляторов и т. д. Известна вакцина против сибирской язвы животных содержащей штамм 55-ВНИИВВиМ. Основные недостатки этой вакцины заключаются в недостаточной защитной силе вакцины при возникновении заболевания. Известен также способ получения вакцины против сибирской язвы животных, включающий выращивание сибирязвенных бацилл в бутылках-четвертях на плотной питательной споруляционной среде, содержащей в качестве основного компонента кислотный гидролизат мяса, смыв спор сибирязвенного штамма дистиллированной водой, и в случае приготовления жидкой вакцины смешивание суспензии спор со стерильным 60% раствором нейтрального глицерина в соотношении 1:1, расфасовку и укупорку, а при приготовлении сухой вакцины смешивание со средой высушивания и лиофилизацией.

Основным недостатком этого способа является дороговизна питательной среды мяса, что отражается на себестоимости вакцины. Поэтому перед нами поставлена задача совершенствовать более иммуногенной вакцины при низкой себестоимости. Нами предложены вакцины против сибирской язвы, где в качестве одного из компонентов изготавливается протективный антиген, полученный из сибиреязвенных бацилл, а ее выращивание проводят на казеиново-дрожжевом агаре.

Для изготовления вакцины использовали бескапсульный сибиреязвенный штамм 55-ВНИИВВиМ, обладающий типичными культурально-морфологическими, тинкториальными и биохимическими свойствами. Штамм не патогенен для морских свинок и кроликов и слабовирулентен для белых мышей.

Для изготовления очередной серии вакцины брали одну пипетку с культурой в 30% растворе глицерина, либо ампулу лиофилизированного штамма 55-ВНИИВВиМ, которую разводили в 1 см физиологического раствора. Суспензию спор высевали в пробирки (флаконы) с МПБ и дробно на чашки Петри с МПА. Посевы инкубировали при 36-37 °С в течение 24 часа. При наличии в пробирках (флаконах) с МПБ характерного роста, на чашке Петри с МПА-однородных сибиреязвенных колонии R-формы, бульонную культуру высевали в бутылки (четверти) с казеиново-дрожжевым агаром из расчета 4-6 см культуры на каждую бутылку. Посевы на казеиново-дрожжевом агаре инкубировали при 34-35⁰С в течение 4-5 суток. Смыв спор производили дистиллированной водой, споровую культуру штамма отсасывали в стеклянную посуду с бусами через сифон с марлевым фильтром. Смытую культуру шуттелировали в течение 1-1,5 ч., после чего из нее брали пробу для определения концентрации жизнеспособных спор и проверки ее на чистоту роста. Концентрацию определяли методом рассева на чашках Петри с МПА и последующим подсчетом выросших колоний. После определения концентрации, которая должна составлять 4-5 млрд. спор в 1 см в случае изготовления сухой вакцины, полученную суспензию смешивали со стерильной, инактивированной сыворотки лошади, либо обезжиренным пастеризованным молоком и соотношение 1:1 тщательно перемешивали, разливали в ампулы по 1,0 см, закрывают стерильным ватным тампоном и лиофилизировали.

Для получения протективного антигена бульонную культуру сибирской язвы засевали на матрасные колбы с 3% агаром, затем тщательно распределяли по поверхности агара. Посевы ставили в термостат при 36-37⁰С на 24 часа. Выросшую культуру снимали шпателем, готовили 5 млрд. споровую взвесь. Полученную взвесь подвергали воздействию ультразвуковых волн до просветления (25-30 минут). По окончании озвучивания микробный дезинтеграт растворяли физиологическим раствором 1:150-1:250. Для приготовления жидкой вакцины концентрацию спор доводили раствором ультразвукового лизата до 40-50 млн в 1 см, а затем полученную суспензию смешивали в реакторе со стерильным 60%-ным раствором нейтрального глицерина в соотношении 1:1 и после тщательного перемешивания в течение 2-3 часов расфасовывали в стерильные флаконы объемом 50-100 см. При изготовлении сухой вакцины, перед лиофилизацией споры разлитые по ампулам замораживали при минус 50-70⁰С в течение 6-8 часов. После замораживания ампулы с вакциной быстро переносили в предварительно охлажденную сушильную камеру. При загрузке температура полок должна быть не ниже минус 10 °С, температура конденсатора минус 40 °С и ниже, показатель вакуума в первые часы лиофилизации не более 100 микрон. В течение 16 часов температуру материала постепенно повышали до нуля. Затем материал 8 часов высушивали при положительной температуре, постепенно повышали от 0 до 20 °С. При 20⁰С материал досушивали 2 часа. Остаточная влажность препарата после высушивания должна составлять 2-3%. Затем ампулы с материалом запаивали без вакуума. Ампулы с сухой вакциной этикетировали и хранили в коробках при 4⁰С до окончания проведения контроля. Каждую серию вакцины контролировали на стерильность (отсутствие контаминации), безвредность и иммуногенность. Для этого содержимое 5-10 ампул объединяли и использовали для проверки. Каждую ампулу вакцины при проверке на безвредность растворяли в 10 см физиологического раствора, а при проверке на иммуногенность в 100 см. Вакцину считают пригодной для практического применения, если она стерильна, безвредна и обладает достаточно выраженной иммуногенностью.

Вакцину применяют для профилактических и вынужденных прививок животным однократно, строго подкожно. Молодняк, не достигший 3-месячного возраста, прививать вакциной не разрешается.

Овцам, козам и свиньям вакцину вводят в область внутренней поверхности бедра в бесшерстный участок в дозе 10-12,5 млн в объеме 0,5 см. Лошадям, крупному рогатому скоту, оленям, верблюдам и ослам вакцину вводят в области средней с трети шеи в дозе 20-25 млн спор в объеме 1,0 см.

Заключение. Использование предлагаемой вакцины против сибирской язвы животных из высокоиммуногенного, арактогенного бескапсульного штамма 55-ВНИИВВиМ, выращенного на плотной питательной споруляционной среде, имеющей в качестве основного компонента казеиново-дрожжевой агар, с добавлением к взвеси ультразвукового лизата сибирезвездных бацилл, обеспечивает по сравнению с существующим способом следующие преимущества: снижение себестоимости вакцины не менее чем на 20%; изготовление и внедрение в практику вакцины против сибирской язвы, превосходящей по иммуногенности; значительное снижение количества заболевших животных вследствие более высокой защиты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ипотенко Н.Г. Почва – основной резервуар возбудителя сибирской язвы // Научные труды ВГНКИ ветпрепаратов. -1984. - № 1. - С. 54-57.
2. Овчаренко Н.Д., Кучина Е.А., Лютаева Т.О. Мониторинг инфекционных заболеваний на территории Красногорского района Алтайского края в период с 2011 по 2016 гг. // Сб. матер. XIII междунар. науч.-практ. конф. – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2018. - С. 415-417.
3. Косжанов Б.М. Характеристика эпизоотологического процесса сибирской язвы. - М., 199. – 23 с.
4. Айтжанов Б.Д., Тюлегенов С.Б., Шокубасов В.Б. Эпизоотическая ситуация по инфекционным заболеваниям сельскохозяйственных животных в юго-восточном регионе Казахстана // Известия Национальной Академии наук Республики Казахстана. – 2017. - № 42. – С. 82-86.
5. Айтжанов Б.Д., Иванов Н.П., Кожаев А. Эпизоотическая и эпидемическая ситуация по сибирской язве на участках автодороги «Западная Европа-Западный Китай» в Жамбылской области // LX сб. науч. тр. КазНИВИ. – Алматы, 2014. – С. 23-29.
6. Черкасский Б.Л., Жанузаков Н.Ж. Сибирская язва. - Алма-Ата: Қайнар, 1980. - С. 4-11.
7. Жанузаков Н.Ж. Особенности эпизоотологии и совершенствование мер борьбы с сибирской язвой в Казахской ССР. – М., 1978. – 16с.
8. Колесов С.Г. Методы получения вакцин против сибирской язвы // Научные труды ГНКИ. - 1957. - С.177-179.
9. А.с. 13778. Способ получения вакцины против сибирской язвы животных/ Б.Д. Айтжанов; опубл. 30.09.2002, Бюл. № 3. – 2 с.

ТҮЙІН

Жануарлардың топалаңына қарсы ұсынылып отырған иммуногенділігі жоғары, реактеогендігі жоқ, капсуласыз 55-ВНИИВВиМ штаммынан әзірленетін вакцина, спора көп түзілетін қатты қоректік ортада өсіріледі, ал қоректік ортаның негізгі құрамдас бөлігіне казеинді-ашытқылы агар қолданып оған топалаң қоздырғышының ультратолқынды лизаты қосылады. Вакцинаның иммуногендік қасиеті микроорганизмдер биологиясының ерекшелігіне, инактивация кезіндегі физика-химиялық факторлардың әсеріне, қоректік орта құрамына, адюванттар және адсорбенттерге, имуноностимуляторларға және басқада факторларға тәуелді келеді. Вакциналдық препаратты өндірістік көлемде дайындау барысында қоректік орта көп кетеді, ол дайын биопрепараттың өзіндік құнына әсер етеді. Сол себепті дайындалатын вакциналдық препараттың иммуногендік қасиетін сақтай отырып, дайын препараттың өзіндік құнын азайтудың маңыздылығы зор. Біз өз тәжірибемізде бұрыннан қолданылып келе жатқан, бірақ бағасы салыстырмалы түрде біршама қымбытқа түсетін ет-пептонды агар мен бағасы оған қарағанда едәуір төмен казеинді-ашытқыны агар қоректік ортасын салыстырмалы түрде

қолданып көрдік. Нәтижесінде біз ұсынып отырған қоректік ортада түзілген агарлар саны бұрыннан қолданып келе жатқан қоректік ортадан кем болған жоқ. Вакциналық препаратқа қойылатын ең негізгі балау оның иммуногендік қасиеті. Өзірленген вакцинаның иммуногендік қасиеті жоғары, ол реактогенді қасиеті болған жоқ. Мұндай жолмен әзірленген вакцинаның өзіндік құны 20 % арзан, иммуногенділігі жоғары болып топалаңға шалдығатын жануарлардың едәуір азайуына септігін тигізеді.

RESUME

The vaccine developed from the 55-Vniiivvim strain without capsules, with high immunogenicity, without reactogenicity, recommended against animal anthrax, is grown in highly formed nutrient media, and ultrasonic lysate of the topoline pathogen is added to the main component of the nutrient medium using casein-yeast agar. The immunogenic fact of the vaccine depends on the characteristics of the biology of microorganisms, the impact of physical and chemical factors during inactivation, the composition of the nutrient medium, adjuvants and adsorbents, Immunostimulants, and other factors. When manufacturing a vaccine preparation, a large amount of nutrient medium occurs in production volumes, which affects the cost of the finished biological product. Therefore, it is important to reduce the cost of the finished product while preserving the immunogenic properties of the manufactured vaccine product. In our experience, we have comparatively used meat-peptone agar, which has already been used, but the price is comparatively a little more expensive, and casein-yeast agar of the nutrient medium, the price of which is much lower than for it. As a result, the number of agars formed in the nutrient medium we offer was not less than the already used nutrient medium. The main approach to a vaccine preparation is its immunogenic properties. The developed vaccine has high immunogenic properties and did not have reactogenic properties. The vaccine developed in this way has a cost of 20% cheaper than immunogenicity, which contributes to a significant reduction in the animal population.

УДК 619:578.824.11

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

Ершебулов З.Д., магистр биологических наук, начальник отдела обеспечения качества

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

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

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

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА ЖИВОТНЫХ

Аннотация

В статье представлены результаты исследований по оценке безопасности и иммуногенности инактивированной вакцины против бешенства животных. Безопасность и иммуногенность инактивированной вакцины проверяли на лабораторных животных (белых мышях и кроликах соответственно). В экспериментах, проведенных на мышях, массой 13-18 г установили, что подкожное введение инактивированной вакцины против вируса бешенства не вызывает реактогенности и нежелательных явлений в организме испытуемых мышей. Внутримышечное введение вакцины кроликам 6-12 мес. возраста, массой 0,4-0,8 кг, не вызывала клинических признаков бешенства, при этом обеспечивала формирование иммунитета против бешенства с образованием у вакцинированных кроликов вируснейтрализующих антител (ВНА) в титрах не менее $3 \log_2$, что соответствует международным стандартам, предъявляемым Европейской Фармакопеей при разработке вакцин против данного вируса. Напряженность иммунитета против бешенства у вакцинированных кроликов была на достаточном уровне, что подтверждено результатами контрольного заражения животных штаммом «CVS» фиксированного вируса бешенства. Таким образом, на основе анализа полученных результатов установлено, что инактивированная