

УДК 619:616.98:579.873.21

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ТУБЕРКУЛІНІВ

Завгородній А.І., Стегній Б.Т., Білушко В.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: bw.pochta@gmail.com

У статті представлені результати порівняльного вивчення на сільськогосподарських тваринах біологічної активності туберкулінів для ссавців, виготовлених різними виробниками.

Ключові слова: туберкулін (ППД) для ссавців, біологічна активність, алергічні реакції, міжнародні одиниці, велика рогата худоба.

Туберкуліни, які застосовуються у різних країнах для діагностики туберкульозу великої рогатої худоби, виготовляються за різними технологіями та мають різну біологічну активність. При цьому застосовуються алергени в різних дозах, об'ємах, існують різні критерії оцінки прояву внутрішньошкірних реакцій [1].

Так, для алергічної діагностики у Франції застосовують синтетичний туберкулін (HCSM) у дозі 10000 МО в об'ємі 0,2 см³, у Великобританії застосовують рідкий ППД-туберкулін для ссавців у дозі 7500 МО в 0,1 см³, у Німеччині, Угорщині, Нідерландах – 5000 МО, у Росії для алергічної діагностики прийнята доза туберкуліну 10000 МО [2].

В Україні застосовують туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині в дозі 5000 МО в 0,1 см³, що дозволяє ефективно виявляти інфікованих збудником туберкульозу тварин та зменшує прояв неспецифічних реакцій на туберкулін у здорових тварин (Завгородній А.І., Кассіч Ю.Я.). Позитивно реагуючими вважають тих тварин, у яких шкіряна складка перевищує нормальну на 3 мм і більше. У країнах ЄС за позитивну реакцію вважають збільшення товщини шкіряної складки більше, ніж на 4 мм, негативною вважають збільшення шкіряної складки не більше, ніж на 2 мм та за відсутності клінічних ознак захворювання.

Нормативними актами ОІЕ при алергічному дослідженні передбачено використання дози туберкуліну 2000 МО з відхиленням 60–150 % від номінальної активності [3]. Для оцінки значення зниження дози туберкуліну необхідно порівнювати ефективність виявлення хворих на туберкульоз тварин і розбіжність результатів шкірних реакцій гіперчутливості сповільненого типу при використанні мінімальних і максимальних доз алергену.

Ефективність заходів профілактики та боротьби з туберкульозом тварин залежить від своєчасної та вірогідної діагностики цього антропозоонозного захворювання. Основним методом прижиттєвої діагностики туберкульозу тварин є алергічний метод із застосуванням туберкуліну. Тому якість туберкулінів, що застосовуються для прижиттєвого виявлення інфікованих збудниками туберкульозу тварин значно впливає на подальший розвиток інфекційного та епізоотичного процесів у гуртах тварин, а також і на терміни оздоровлення господарств.

Метою роботи було проведення порівняльних досліджень біологічної активності комерційних серій туберкулінів для ссавців від різних виробників з міжнародним і національним стандартними зразками.

Матеріали та методи. З метою вивчення біологічної активності були проведенні порівняльні дослідження зразків комерційних серій туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців.

Дослід проводили на клінічно здорових бичках чорно-рябої породи 10–12-місячного віку, живою вагою 230–280 кг, які до початку дослідження не реагували на ППД-туберкулін для ссавців у стандартному розчині. Дослідження біологічної активності туберкулінів, виготовлених ДП «Сумська біофабрика» (С-24, виготовлена 28.05.2013 р., Україна), ФГУП «Курська біофабрика» (С-17, Росія), міжнародного стандартного зразку NIBSCE (Великобританія) і вітчизняного Національного стандартного зразку сухого очищеного ППД-туберкуліну для ссавців (С-3) [4], здійснювали на 20-ти тваринах, щеплених зависсю живої культури штаму BCG у дозі по 5,0 мг бакмаси у 1,0 см³ стерильного ізотонічного розчину.

Активність серій туберкулінів різних виробників вивчали у 3-х розведеннях: по 200, 1000 і 5000 МО. Алергени вводили внутрішньошкірно в депільовані й оброблені 70°-ним етиловим спиртом ділянки шкіри у межах середньої третини шиї за допомогою ін'єктору «БІ-7»: з лівої сторони – на відстані 10–15 см між місцями введення – три дослідні серії туберкуліну, а з правої сторони – контрольні серії (NIBSCE і національний стандарт). Облік алергічних реакцій у тварин проводили через 72 години після введення алергенів шляхом визначення різниці величини потовщення шкіри в місці ін'єкції препарату до введення та після введення туберкуліну.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за методом критерію знаків [5]. Маніпуляції з тваринами проводили керуючись принципами біоетики.

Результати досліджень наведені у таблиці 1.

Таблиця 1 – Вивчення активності туберкуліну виробництва ДП «Сумська біофабрика» на великій рогатій худобі

n	Середній показник потовщення складки шкіри після введення розведень туберкулінів, мм						Наявність більшої (+), меншої (-) або однакової (=) реакцій на дослідну ніж на контрольну серію туберкуліну		
	200 МО		1000 МО		5000 МО		200 МО	1000 МО	5000 МО
	NIBSE	Дослідна серія	NIBSE	Дослідна серія	NIBSE	Дослідна серія			
ППД-туберкулін для ссавців ДП «Сумська біофабрика»									
10	4,2±0,34	4,1±0,4	6,4±0,57	6,2±0,60	17,5±1,52	18,0±1,65	-	-	+
ППД-туберкулін для ссавців ФГУП «Курська біофабрика»									
10	5,4±0,46	5,2±0,52	6,8±0,62	7,1±0,69	19,1±1,81	19,0±1,74	-	+	-
Національний стандарт ППД-туберкуліну для ссавців									
12	4,1±0,37	4,2±0,39	7,3±0,71	7,1±0,67	21,9±2,20	22,2±2,01	+	-	+

Примітка: n – кількість дослідних тварин

Із даних таблиці 1 видно, що середньостатистичні показники розміру внутрішньошкірних алергічних реакцій у великої рогатої худоби на введення туберкулінів у залежності від дози введення поступово зростають від мінімальної (4,1±0,37) мм – на введення туберкуліну у дозі 200 МО до максимальної (22,2±2,01) мм – на 5000 МО. Отримані результати досліджень закономірно відображають поступове зростання інтенсивності алергічних реакцій у залежності від збільшення дози туберкуліну. Так, після введення туберкуліну серії № 24 (ДП «Сумська біофабрика») у дозі 200 МО відмічали потовщення складки шкіри у тварин у середньому на (4,1±0,4) мм; 1000 МО – (6,2±0,60) мм і 5000 МО – (18,0±1,65) мм. При цьому, сумарна інтенсивність алергічних реакцій після введення препарату у дозах 200 і 1000 МО була меншою на дослідну серію № 24 ніж на контрольну NIBSE

У результаті досліджень із застосуванням туберкуліну Курської біофабрики у дозі 200 МО відмічали потовщення складки шкіри у тварин у середньому на (5,2±0,52) мм; 1000 МО – (7,1±0,69) мм і 5000 МО – (19,0±1,74) мм. Сумарна інтенсивність алергічних реакцій після введення препарату у дозах 200 і 5000 МО була меншою на дослідну серію препарату ніж на контрольну серію.

Після введення Національного стандарту туберкуліну у дозі 200 МО відмічали потовщення складки шкіри у тварин у середньому на (4,2±0,39) мм; 1000 МО – (7,1±0,67) мм і 5000 МО – (22,2±2,01) мм, а сумарна інтенсивність алергічних реакцій після введення препарату у дозі 1000 МО була меншою на дослідну серію туберкуліну ніж на контрольну серію міжнародного стандарту туберкуліну (NIBSE).

Слід відзначити, що при порівнянні інтенсивності реакцій після введення дослідних і контрольних алергенів не встановлено вірогідної різниці між цими препаратами, що свідчить про їх рівнозначність за біологічною активністю.

Висновки та перспективи подальших досліджень. За результатами досліджень встановлено, що ППД-туберкуліни для ссавців виробництва ДП «Сумська біофабрика», ФГУП «Курська біофабрика», NIBSCE (Вейбридж, референс-лабораторія) і Національний стандарт туберкуліну для ссавців (Україна) у дозах 200, 1000 і 5000 МО за біологічною активністю є рівнозначними діагностичними препаратами для прижиттєвої алергічної діагностики туберкульозу у тварин.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні технологічного регламенту виготовлення Національного стандартного зразку алергену з атипичних мікобактерій (ААМ), який відповідав би за діагностичними якостями Національному стандарту туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців при їх використанні у симультанній алергічній пробі для визначення природи алергічних реакцій на туберкулін у великої рогатої худоби.

Список літератури

1. Козлов, В. Е. Оценка активности национального стандарта туберкулина (ППД) для млекопитающих относительно 1-го международного стандарта туберкулина (PPD) bovine [Текст] / В. Е. Козлов, В. М. Безгин, К. В. Шумилов // Вет. патология «Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных», Научно-практич. журн. по фундаментальным и прикладным вопросам ветеринарии. М. : 2004. – № 1–2 (9). – С. 85–89.
2. Козлов, В. Е. Аллергены для диагностики туберкулеза. Совершенствование производства и стандартизация [Текст] : автореф. дис. ... д - ра вет. наук / В.Е. Козлов ; [ВИЭВ] . – М., 2007. – 32 с.
3. ППД-туберкулін для ссавців виробництва Сумської біофабрики [Текст] / А.І. Завгородній [та ін.] // «Ветеринарна медицина України». – 2006. – № 1. – С. 34-35.
4. Туберкулін сухий очищений (ППД) для ссавців (Національний стандарт) ТУ У 24.4-00497087-107:2011.
5. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика [Текст] / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Издат. «Высшая школа», 1973. – 320 с.

THE COMPARATIVE STUDY OF ACTIVITY TUBERCULINS

Zavgorodniy A.I., Stegnyy B.T., Bilushko V.V.

National scientific center "Institute of experimental and clinical veterinary medicine", Kharkov

Purpose - to conduct comparative studies in terms of biological activity of commercial batches from different manufacturers tuberculin PPD-mammalian international and national standard samples.

Materials and methods. To study the biological activity of a comparative study of samples of commercial batches of purified tuberculin (PPD) for mammals produced GF "Sums biofactory" FGUF "biofactory Kursk" international standard sample NIBSCE (United Kingdom) and National standard national sample dried purified tuberculin PPD-mammalian.

The experiment was carried out on 10 clinically healthy bullock 10-12 months of age, body weight 230-280 kg.

Activity series tuberculin different manufacturers were studied in 3 dilutions: 200, 1000 and 5000 IU. Allergens were injected intradermally in depilovani skin in the middle third of the neck using injector "BI-7" at doses of 200, 1000 and 5000 IU in a volume of 0.1 cm³. Accounting allergic reactions in animals was performed 72 hours after administration of allergens.

Results. Of average size in vnutrishoshkirnyh allergic reactions in cattle to enter tuberculin in a dose-dependent administration of gradually increasing the minimum (4,1±0,37) mm - the introduction of tuberculin in a dose of 200 IU to a maximum of (22,2±2,01) mm - 5,000 IU. The obtained results naturally reflect a gradual increase in the intensity of allergic reactions, depending on the increase in the dose of tuberculin. For example, after the introduction of tuberculin series number 24 (Sums biofactory) at a dose of 200 IU noted potovshennya folds of skin in animals on average (4,1±0,4) mm; 1,000 IU - (6,2±0,60) mm and 5000 IU - (18,0±1,65) mm. Thus, the total intensity of allergic reactions after administration of the drug at doses of 200 and 500 IU was less on research series number 24 than control NIBSE.

Conclusion. The research found that PPD-tuberculin mammals of SE "Sums biofactory" FSUE "Kursk biofactory", NIBSCE and national standards for mammalian tuberculin (Ukraine) for biological activity are equivalent diagnostic agents for in vivo diagnosis of tuberculosis in allergic animals.

Prospects for future research are to develop national standard samples of purified allergen dry with atypical mycobacteria (AAM), which would be responsible for diagnostic as the national standard for mammalian tuberculin when used in simultaneous allergy test to determine the nature of allergic reactions to tuberculin in cattle.

Keywords: tuberculin (PPD) for mammals, biological activity, allergic reactions, international units, cattle.

УДК 636.09:619:616.988.27

ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ТА СПЕЦИФІЧНОСТІ ДІАГНОСТИЧНОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ ПЛР ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ГЕНОМУ ВІРУСУ ЧУМИ М'ЯСОЇДНИХ

Кацимон В.В., Карпуленко М.С., Головка О.А.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ, e-mail:vetbiotk@i.ua

У статті відображено результати роботи щодо розроблення чутливої та специфічної тест-системи для ідентифікації геному вірусу чуми м'ясоїдних. Послідовно описано методи отримання специфічних праймерів, режими постановки зворотно-транскриптазної полімеразної реакції та результати дослідження чутливості специфічності розробленої діагностичної тест-системи.

Ключові слова: геном вірусу, діагностика, тест-система, чума м'ясоїдних

Чума собак – поширене в усьому світі висококонтагіозне, гарячкове, системне захворювання, викликане інфекційним вірусом чуми собак (canine distemper virus, CDV). Широкий спектр ураження вірусу охоплює не тільки собак, але й інших хижаків. Вірус чуми собак належить до роду *Morbillivirus* підродини *Paramyxovirinae* сімейства *Paramyxoviridae*. Сімейство *Paramyxoviridae* разом з родинami *Bornaviridae*, *Filoviridae* і *Rhabdoviridae* належить до порядку *Mononegavirales*. До сімейства *Paramyxoviridae* по Принглу [1] належать обидві підродини *Paramyxoviridae* (з родами *Morbillivirus*, *Paramyxovirus*, *Rubulavirus*) і *Pneumovirinae* (з родом *Pneumovirus*) [2].

До Морбіллівірусів відноситься крім вірусу чуми собак також: патогенний для людини вірус кору (measles virus MV), вірус чуми великої рогатої худоби (RPV), збудник чуми дрібної рогатої худоби (Pestides-petits – ruminants Virus, PPRV), також Мобіллівіруси морських ссавців (вірус чуми тюленів «phocine distemper virus», PDV); «porpoise morbillivirus», PMV і морбіллівірус дельфінів DMV [3].