

ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 619:616.988:614.47

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИН И ДИАГНОСТИКУМОВ

Улугмурадов А.Д., Рузимуродов М.А.

*Научно-исследовательский институт ветеринарии,
г. Самарканд Республика Узбекистан, e-mail:nivi@vetgov.uz*

Одной из основных задач развития производства биопрепаратов в любой стране является создание собственной коллекции производственных штаммов, тщательное изучение их стабильности и всех присущих им генетических признаков (маркёров). Известно, что основными маркёрами при характеристике вирулентных и авирулентных штаммов бруцелл являются агглютиногенность, агглютинабельность и остаточная вирулентность. Данные признаки маркёров являются основными при селекции штаммов бруцелл предназначенных для изготовления вакцин и диагностикумов.

Вопросам изучения разработки и совершенствования средств и методов специфической профилактики и диагностики бруцеллёза посвящено множество работ (Здравовский П. Ф., Вышелесский С.Н., Пашковский А.Н., Орлов Е.С., Вершилова П.А., Юсковец М.К., Иванов М.А, Косилов И.А., Шумилов К.В., Климанов А.И., Михайлов Н.А., Ниязов У.Э., Касьянов А.Н., Сапегина Е.П., Тавамайшвилли М.Е., Иванов И.И., Тен В.Б. и др.). Благодаря этим работам достигнуты значительные успехи в борьбе с бруцеллёзом, изучены и рекомендованы различные штаммы, и технологические процессы изготовления противобруцеллёзных препаратов многие из которых используются до сих пор.

Основной целью нашей работы являлось изучение свойств штаммов бруцелл различной видовой и вирулентной принадлежности выделенных в различных регионах нашей страны в разное время и создание отечественного депозитария производственных культур бруцелл и референс препаратов, которые могут быть использованы для изготовления противобруцеллёзных препаратов.

Исследование агглютиногенных свойств штаммов Бр. абортус 19 вариант UZ, 104М вариант UZ, 126 (музейный), 1/2017 (музейный), Бр.мелитензис Рев-1 вариант UZ, 9 (музейный), 633 (музейный) проводили на кроликах (31 гол.), а изучение остаточной вирулентности шаммов Бр. абортус 19 вариант UZ, 104М вариант UZ, Бр. мелитензис Рев- 1 вариант UZ проводили на 30 морских свинок.

Для изучения агглютиногенных свойств культуры бруцелл различных видов инактивировали при 80° С в течении одного часа. Заражающая доза для всех кроликов составляла 1 млрд. м.к. в одном миллилитре по оптическому стандарту мутности ГНИСК им. Тарасевича. Кроликам взвесь бруцелл каждого штамма вводили в область правого паха подкожно в объёме 2 мл. Забор крови из сердца кроликов с целью получения гомологичных и гетерологичных сывороток осуществляли через 30 дней после заражения.

При изучении остаточной вирулентности вакцинных штаммов культур Бр. абортус 19 вариант UZ, 104М вариант UZ, Бр.мелитензис Рев-1 вариант UZ использовали дозы: 10 000, 100 000, 1 млрд, микробных тел из каждого штамма содержащихся в одном миллилитре. Указанные дозы получали с использованием стандарта мутности ГНИСК им. Тарасевича и последующей титрации до получения необходимой концентрации. Полученные концентрации доз вводили морским свинкам массой 350-400 гр в объёме 1 мл в область правого паха. Каждой отдельной дозой было иммунизировано по 3 головы морских свинок.

В результате сравнительного изучения агглютиногенных свойств отобранных штаммов бруцелл установлено, что все селекционированные вакцинные и эпизоотические штаммы бруцелл способствуют выработки агглютининов у кроликов. При этом титр агглютининов в РА у кроликов иммунизированных вакцинными штаммами 19 UZ и Рев-1 UZ был значительно выше, чем у вакцинного штамма 104 М UZ, соответственно 80, 100 МЕ/мл против 40 МЕ/мл. Показатели титров агглютининов в РА у вакцинных штаммов также достоверно отличалась от таковых эпизоотических штаммов бруцелл как вида абортус, так и мелитензис. При сравнении результатов полученных титров агглютининов в РА среди эпизоотической группы предполагаемых референтных штаммов наименьший показатель установлен при использовании штамма Бр. мелитензис 653 (10 МЕ/мл), а наивысший титр при введении кроликам штамма 126 вида абортус (40 МЕ/мл). При использовании антигена для пластинчатой реакции агглютинации в РБП установлено, что во всех сыворотках крови были выявлены бруцеллёзные антитела, интенсивность которых варьировала от 2 до 4 крестов или 50-100%-я агглютинация. Таким образом, на основании результатов, этих и других исследований, можно констатировать, что все изучаемые штаммы вызывали выработку агглютининов (антител), которые выявляются стандартным антигеном, изготовленным из культур в S-форме шт. Бр. абортус -104М и способны вызывать иммунологическую перестройку в организме тестовых животных (кроликов) и могут быть использованы для дальнейшего изучения.

Результаты сравнительного изучения остаточной вирулентности свойств бруцелл в различных дозах в опыте на морских свинках показали, что селекционированные вакцинные штаммы Бр.абортус 19 UZ, Бр.абортус 104М UZ и Бр. мелитензис Рев-1 UZ (джереники) не отличаются по своим вирулентным свойствам от таковых коммерческих аналогов. Все изучаемые штаммы в дозе 10 тыс. мк. кл. не приживаются в организме морских свинок. Ярко выраженных патологоанатомических изменений внутренних органов не наблюдали. В дозе 100 тыс. мк. кл. штамм Рев-1 UZ приживается только у части привитых морских свинок. В этой же дозе при использовании штамма 104 М UZ была выделена культура только из крови, тогда как из остальных органов она не выделялась. В этих указанных дозах при патологоанатомическом изучении отмечали незначительные изменения в паховых лимфотических узлах и наблюдали гиперплазию отдельных фолликулов селезёнки. В дозе 1 млрд. мк. кл. при использовании всех трёх штаммов патологоанатомическая картина характеризовалась незначительным увеличением паховых, лимфатических узлов и гиперплазией селезёнки. В отдельных случаях в дозе 1 млрд. мк. кл. при использовании штамма Рев-1 UZ отмечали ярко выраженную гиперплазию фолликулов селезёнки и в отдельных случаях в печени наблюдали единичные абсцессы и некротические очаги.

Наибольший показатель индексов инфицированности и селезёнки наблюдали в группе морских свинок иммунизированных штаммом Рев-1 UZ дозой 1 млрд. мк. кл. Показатели ИИ (42,8) и ИС (2,5) при использовании штамма 104 М UZ в этой же дозе был ниже, чем ИИ (57,1) и ИС (5,2) полученных в группе при использовании штамма Рев-1 UZ. Значения ИИ (28) и ИС (2,4) были наименьшими во всех случаях независимо от применяемой дозы при использовании штамма 19 UZ.

Результаты серологических исследований в РА с сыворотками крови морских свинок, также свидетельствуют о высокой агглютиногенности всех трёх изучаемых штаммов. Наиболее агглютиногенными свойствами обладает штамм Рев-1 UZ. Штамм Бр. абортус 104М UZ хотя и обладает выраженными агглютиногенными свойствами по сравнению со штаммом 19 UZ, однако, значительно уступал по этому показателю штамму Бр. мелитензис Рев-1 UZ.

Таким образом, результаты изучения остаточной вирулентности селекционированных вакцинных штаммов показали, что наибольшей остаточной вирулентностью обладает штамм Бр. мелитензис Рев-1 UZ, который в дозе 100 тыс. мк. кл. приживается в организме морских свинок. Штамм Бр.абортус 104М UZ по своей

остаточной вирулентности занимает промежуточное положение, который хоть и может приживаться в дозе 100 тыс. мк. кл. в организме животных, однако, показатели индексов инфицированности и селезенки у них заметно ниже, чем у штамма Рев-1. Штамм Бр.абортус 19 UZ обладает наименьшей остаточной вирулентностью по сравнению со штаммами 104M UZ и Рев-1 UZ, который хорошо приживается в дозе 1 млрд. мк. кл., но не расселяется в дозе 10 и 100 тыс. мк. кл.

Таким образом, резюмируя эти и другие полученные результаты можно заключить, что селекционированные в Узбекистане вакцинные штаммы Бр.абортус 19 вариант UZ биотип-1, Бр.абортус 104М-вариант UZ биотип-6 и Бр. мелитензис Рев-1-вариант UZ биотип-1 из коллекции музея лаборатории бруцеллеза НИИВ могут быть использованы в качестве дженериков на территории республики для производства противобруцеллезных вакцин и диагностикумов.

Выводы

1. Установлено, что штамм Бр.абортус 104M UZ хотя и может приживаться в организме морских свинок в дозе 100 тыс. мк.кл., однако, показатели индексов инфицированности и селезенки у них заметно ниже аналогичных полученных при использовании штамма Рев-1.

2. Показано, что штамм Бр.абортус 19 UZ обладает наименьшей остаточной вирулентностью по сравнению со штаммами 104M UZ и Рев-1 UZ и не расселяется (приживается) в дозе 100 и 10 тыс. мк. кл. мл.

3. На основании полученных данных на штаммы Бр.абортус 19 UZ биотип-1, Бр.абортус 104М-вариант UZ биотип-6 и Бр. мелитензис Рев-1-вариант UZ биотип-1, составлены паспорта в установленной форме на основании, которых они включены в депозитарий «Уникальной коллекции микроорганизмов животных» при Региональной диагностической лаборатории НИИВ.

4. Селекционированные в Узбекистане штаммы Бр.абортус 19 UZ, Бр.абортус 104M UZ и Бр. мелитензис Рев-1UZ с паспортами в установленной форме могут быть использованы на территории республики для производства противобруцеллезных вакцин и диагностикумов в качестве дженериков.

Список использованной литературы

1. Осидзе Д.Ф. Ветеринарные препараты. - М.: Колос, 1981. -445 с.
2. Авилов В.М., Селиверстов В.В., Шумилов К.В. и др. Бруцеллез животных и его специфическая профилактика // Ветеринария. -1997. -№7. -С. 3-6.
3. Косилов И.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных.-Новосибирск, 1992. -260 с.
4. Шумилов К.В. и др. Специфическая профилактика бруцеллеза //Сб науч.тр. ВГНКИ. - Москва, 2000. -С 160-163.
5. Мирзаева М.А. Характеристика культур бруцелл, выделенных на территории Узбекской ССР. // Тез.докладов Актуальные вопросы профилактики бруцеллеза и организация медицинской помощи больным. -Новосибирск, 24-25 октября 1989 г. -С-57.
6. Рузимуторов М.А. Проблема бруцеллеза в Узбекистане // Тез.докладов III-съезд микробиологов Узбекистана. -Ташкент 9-10 ноября 2005 г.