

Таким чином, туберкулін сухий очищений (ППД) для ссавців викликає в гомологічній системі (*in vivo*) більш інтенсивний прояв алергічних реакцій ніж туберкулін польського виробництва. Коефіцієнт (k) співвідношення біологічної активності (d_1/d_2) становить 1,059.

Висновок. За результатами проведених досліджень встановлено, що туберкулін сухий очищений (ППД) для ссавців, виготовлений за технологією ННЦ «ІЕКВМ», має вищу біологічну активність ніж препарат «*Bovituberculin AN₃*» ($k = 1,059$).

Список літератури

1. Яблокова, Т. Б. Характеристика препаратів для діагностики туберкульозу і микобактериозів [Текст] / Т. Б. Яблокова // Пробл. туберкульозу, М.: «Медицина», 1972. - № 5. - С. 72-76.
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. Ерошенко, Л. А. Оптимизация метода определения активности туберкулина [Текст]: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Л. А. Ерошенко; [ВГНКИ]. - М., 1997. - 20 с.
4. OIE Manual of standards for diagnostic test and vaccines / 2009. 1. P. 515-525. «Туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині» ТУ У 24.4.00497087.645-2001.
5. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика [Текст] / П. Ф. Рокицкий. - Минск: Издат. «Высшая школа», 1973. - 320 с.

TESTING OF TUBERCULIN DRY PURIFIED (PPD) FOR MAMMALS COMPARED WITH FOREIGN ANALOGUE «BOVITUBERCULIN AN₃» (PUŁAWY) IN VIVO

Bilushko V.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

The paper presents the results of a comparative study of the biological activity of tuberculin purified dry (PPD) for mammals in comparison with the Polish analogue «Bovituberculin AN₃» (Puławy).

УДК 619:615.9:615.284

ПАРАМЕТРИ ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАЛЬНОГО ЗАСОБУ «АМПРОЛЕВ» НА БІЛИХ МИШАХ

Богач М.В., Присяжнюк Ю.М.

Одеська дослідна станція ННЦ «ІЕКВМ», м. Одеса

Для лікування та профілактики паразитарних хвороб тварин, у тому числі птиці, є достатня кількість антгельмінтиків, еймеріостатиків та інсектоакарицидів [1].

Однак, у ряді випадків їх застосування не завжди дає бажаного ефекту так як перебіг хвороби переважає у вигляді змішаної інвазії. У птахівництві серед м'ясних порід птиці (кури, індички) асоційований перебіг гетеракозно-гістомонозної або еймеріозно-гістомонозної інвазії призводить до значних втрат у виробництві від загибелі молодняка та відставанні у рості і розвитку, а птиця, яка переохворіла у молодому віці залишається носієм інвазії [2].

Основним засобом боротьби була і залишається хіміотерапія. Перевагу слід віддавати препаратам, які мають імуностимулюючу властивість. З цієї метою створено та запатентовано антгельмінтик з розширеним спектром дії «Ампролев» для перорального застосування. Він базується на поєднанні нематоцидної дії левамизолу та протистоцидної дії ампроліуму з вираженою імуностимулюючою властивістю у поєднанні з аскорбіновою кислотою [3].

У процесі створення та впровадження кожного нового препарату одним із етапів є його токсикологічні дослідження зі з'ясуванням параметрів гострої та хронічної токсичності на білих мишах за умов тривалого його внутрішньошлункового введення.

Метою наших досліджень було в умовах експерименту визначити параметри хронічної токсичності препарату «Ампролев» на білих мишах.

Матеріали і методи. Визначення параметрів хронічної токсичності нового препарату «Ампролев» визначали згідно з «Доклінічним дослідженням ветеринарних лікарських засобів» та «Методическими указаними по токсикологіческой оцелке химическеских веществ и фармакологическеских препаратів применяемых в ветеринарии» [4, 5].

Дослідження проводили на базі віварію ОДС ННЦ «ІЕКВМ» з використанням безпородних білих мишей.

За схемою досліду було сформовано 4 групи мишей з яких три дослідних та контрольна ($n=7$). Тваринам дослідних груп щоденно упродовж 10 діб задавали водну суміш 0,0002 дм³ «Ампролеву» з вмістом наступних доз препарату: 1/100 DL₅₀ – 16,80 мг/кг (I група); 1/50 DL₅₀ – 33,58 мг/кг (II група); 1/25 DL₅₀ – 67,18 мг/кг (III група). Тварини четвертої групи були контролем, яким за аналогічною схемою щоденно вводили дистильовану воду в зазначеній дозі.

Препарат у вищевказаних дозах задавали у визначений час, щоденно, упродовж 10 діб, перорально, натще, за допомогою зонда для лабораторних тварин. На початку та в кінці досліду мишей дослідних та контрольної групи зважували, а також, упродовж досліду, вели спостереження за клінічними станом та поведінкою тварин.

З метою визначення впливу препарату «Ампролев» на організм хворих тварин на наступну добу після останнього введення лікарського засобу мишей під час легкого ефірного наркозу відбирали від них зразки крові для проведення гематологічних та біохімічних досліджень.

З гематологічних показників визначали кількість еритроцитів і лейкоцитів шляхом підрахунку їх в лічильній камері Горяєва за загальноприйнятою методикою; диференційний підрахунок лейкоцитів здійснювали шляхом мікроскопічного дослідження 100 клітин у мазках крові, фарбованих за Романовським-Гімза; концентрація гемоглобіну – за загальноприйнятою методикою [6].

У сироватці крові вміст загальної білку, глюкози, сечовини та лужної фосфатази визначали за біуретовою реакцією та турбідиметричним методом [7]. Біохімічні дослідження проводили на базі лабораторії біохімії Одеського військового клінічного шпиталю.

Результати досліджень. Під час проведення експерименту з визначення хронічної токсичності упродовж 10 діб певних змін у поведінці тварини дослідних груп, у порівнянні з мишами контрольної групи, не встановлено. Загиблих лабораторних тварин у всіх групах не зареєстровано. У мишей дослідних груп, яким упродовж експерименту задавали препарат у визначеній дозі згідно фізіологічної норми зареєстровано збільшення загальної маси тіла, як і в тварин з контрольної групи. Динаміку маси тіла білих мишей за хронічної токсичності наведено в таблиці 1.

Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунологічних препаратів. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів

Таблиця 1 – Показники маси тіла білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату «Ампролев» (M±m, n=28)

Групи та дози	Маса тіла, г				
	На початку досліджу		Після 10 введень		
	Загальна по групі	Середня однієї тварини	Загальна по групі	Середня однієї тварини	% зростання загальної маси
I – 1/100 DL ₅₀	134,5	19,21±0,1	142,6	20,37±0,01 *	105,57
II – 1-50 DL ₅₀	135	19,34±1,2	144	20,61±1,2	106,66
III – 1/25 DL ₅₀	134	19,12±0,1	144	20,59±1,2	107,46
IV- контрольна	134,5	19,26±1,4	143	20,48±0,04 *	106,31

Примітка: * - P<0,05

Встановлено, що в усіх тварин відбувалось зростання маси тіла та у відсотковому відношенні воно було аналогічним майже у всіх групах 106,31 % в контролі та 105,57-107,46 % в I та III групах.

По завершенню досліджу від тварин усіх груп відібрані зразки крові для морфологічних та біохімічних досліджень щодо токсичного впливу препарату «Ампролев». Результати досліджень наведені в таблиці 2 та 3.

Таблиця 2 – Морфологічні показники крові білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату «Ампролев» (M±m, n=28)

Показники	Групи тварин			
	I (1/100 DL ₅₀)	II (1-50 DL ₅₀)	III (1/25 DL ₅₀)	IV (контрольна)
Гемоглобін, г/л	162,21±4,17 **	164,17±4,37 **	163,24±6,12	167,72±2,85
Еритроцити, Т/л	8,93±0,12 *	9,32±0,24	8,89±0,47	9,16±0,43
Лейкоцити, Г/л	8,21±0,15	7,95±0,02	8,34±1,02	7,48±0,22
Еозинофіли, %	1,11±0,12 *	0,92±0,14 *	0,93±0,22	1,12±0,11
Базофіли, %	0,32±0,01	0,67±0,11	0,84±0,12	0,32±0,02
Нейтрофіли, %	32,12±2,12	37,62±1,34	39,12±2,01	29,27±1,14
Лімфоцити, %	65,81±3,21 **	60,20±0,48	58,50±3,12	67,59±0,24
Моноцити, %	0,64±0,21	0,59±0,12	0,61±0,43	0,60±0,38

Примітка: * - P<0,05, ** - P<0,01

Згідно аналізу за морфологічними показниками крові відмічено зниження кількості гемоглобіну у дослідних групах зі 167,72±2,65 г/л у контролі до 162,21 та 163,24±6,12 г/л в I та III групах. У лейкограмі відбулися суттєві зміни у кількісних показниках нейтрофілів, рівень яких суттєво зростав у тварин II та III груп – до 37,62±1,34 % та 39,12±2,01 %, які отримували препарат у дозі 1/50 DL₅₀ та 1/25 DL₅₀ відповідно. Водночас на фоні зростання кількості нейтрофілів реєстрували поступове зниження кількості лімфоцитів, яке було суттєвим у групах мишей з такою ж дозою препарату 1/50 DL₅₀ та 1/25 DL₅₀.

У лейкограмі також зареєстровано незначне зменшення кількості моноцитів в усіх трьох дослідних групах тварин, однак ці зміни не були суттєвими.

Таблиця 3 – Окремі біохімічні показники сироватки крові білих мишей за умов визначення хронічної токсичності препарату «Ампролев» (M±m, n=28)

Показники	Групи тварин			
	I (1/100 DL ₅₀)	II (1-50 DL ₅₀)	III (1/25 DL ₅₀)	IV (контрольна)
Загальний білок, г/л	66,62±1,21	68,29±0,24	69,76±1,34	65,73±1,22
Лужна фосфатаза, Од/л	62,43±2,17	65,37±0,13	63,92±2,14	64,48±2,31
Сечовина, ммоль/л	20,42±0,04	21,17±0,02	21,98±0,01	19,76±0,02
Глюкоза, ммоль/л	8,92±0,12	8,76±0,11	9,01±0,12	8,17±0,21

За біохімічними показниками крові відмічено суттєве збільшення загального білка в III та IV групах тварин, які отримували «Ампролев» в дозах 1/50 DL₅₀ та 1/25 DL₅₀, що вказує на певні зміни в синтетичній функції печінки. Поступове та водночас незначне зниження лужної фосфатази в сироватці крові мишей з 64,48±2,31 Од/л до 63,27 та 62,43±2,17 Од/л свідчить про відсутність тяжких токсичних процесів зі сторони печінки. Щодо показника сечовина, то упродовж досліджу в групах тварин, яким застосовували препарат, відмічали його незначне зростання у порівнянні із контролем. Збільшення кількості глюкози також було в дослідних групах тварин, але незначне у порівнянні з контролем. Таким чином, введення білим мишам препарату «Ампролев» суттєво на вплинуло на біохімічні показники сироватки крові дослідних тварин, а їх коливання були в межах фізіологічної норми, тобто препарат не спричиняє певних порушень в обміні вуглеводів.

Висновки.

1. Застосовані дози препарату призвели до незначного зниження рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у порівнянні до контролю, але він не пригнічував еритропоез кісткового мозку. У тварин, які отримували «Ампролев» у дозах 1/50 DL₅₀ та 1/25 DL₅₀ реєстрували зменшення кількості лімфоцитів і незначне зростання рівня нейтрофілів, що вказує на подразнюючий вплив збільшених доз діючих речовин лікувального засобу.

2. Створений препарат за внутрішньошлункового введення білим мишам упродовж 10 діб не впливав на зміну маси тіла та не спричинив суттєвого впливу на біохімічні показники дослідних груп тварин і відповідно до ГОСТ 12.1.007-76 він належить до класу помірно токсичних речовин.

Перспективи подальших досліджень. Для завершення нормативно-технічної документації з метою комплектації реєстраційного доосьє визначити параметри гострої токсичності препарату.

Список літератури

1. Березовский, А.В. Современные лекарственные средства фармакокорекции и химиопрофилактики животных [Текст] / А.В. Березовский, А.И. Поживил, А.Н. Шевченко. – Киев, 2007. – 240 с. 2. Богач, М.В. Кишкові інвазії індиків (поширення, діагностика, патогенез, профілактика) [Текст] : дис. ... д.вет. н / М.В. Богач. – Харків, 2008. – 397 с. 3. Деклараційний патент на винахід 70894 А Україна 7 А61К31/60. Засіб для лікування індиків при спонтанній гістомонозно-гетеракідозній інвазії [Текст] / М.В. Богач, Б.Т. Стегній, І.Л. Тараненко; заявник та правовласник Нац. наук. центр «Ін-т експерим. і клініч. вет. медицини»; заявл. 31.12.2003; опубл. 15.10.2004, Бюл. № 10. – 4 с. 4. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / За ред. І.Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с. 5. Висоцкий, А.Э. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов применяемых в ветеринарии [Текст] / А.Э. Висоцкий, М.П. Кучинский, Ю.Я. Бирман. – Минск, 2007. – 156 с. 6. Левченко, В.І. Ветеринарна клінічна біохімія [Текст] / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін // За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
7. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.

THE PARAMETERS OF CHRONIC TOXICITY OF COMPLEX THERAPEUTIC AGENT "AMPROLEV" ON WHITE MICE

Bogach N.V., Prysiazhniuk J.N.

Odessa Experimental Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

By the preclinical studies of complex therapeutic agent "Amprolev" during intestinal injection to the white mice there was determined that its continued use does not affect the change in body weight, morphological and biochemical parameters of blood of animals. Reducing the number of lymphocytes in leukogram and increased of neutrophils when used in doses of 1/50 and 1/25 DL₅₀ indicates irritable effect of increasing doses of the drug on the animal organism, and the drug can be classified as moderately toxic substance.

УДК 619:616.98:578.831.31

РОЗРОБЛЕННЯ КОМПЛЕКСНОЇ СХЕМИ СЕРОМОНІТОРИНГУ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ

Бузун А.І., Прохорятюва О.В., Заремба О.В., Стегній М.Ю., Коваленко Л.В., Дорош Ю.О., Михайлова С.А.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Біла Н.В.

Інститут сільського господарства степової зони України НААН, м. Дніпропетровськ

Репродуктивно-респіраторний синдром свиней (РРСС) – вірусна хвороба, яка проявляється репродуктивними розладами у свиноматок та ураженнями легень поросят (Dea S., 1999). Етіологічним агентом хвороби вважається РНК-вмісний вірус родини *Arteriviridae* (Cavanagh D., 1997), який має генетичні варіанти – генотипи. На сьогодні найбільш вивченими є американський та західноєвропейський генотипи збудника (Katz J.B., 1995), але останнім часом з'являються повідомлення про виділення інших генетичних варіантів збудника. За приблизними оцінками, в США та Європі інфіковано свинопололів'я більше половини свиного господарств, де втрати продуктивності сягають 20 % (Christianson W.T., 1994). Свинарство України, на жаль, не є виключенням (В. Піотрович, 2010).

Серологічний моніторинг займає важливе місце в системі запобігання та ліквідації РРСС. Для виявлення антитіл проти РРСС за кордоном розроблено та впроваджено непряму реакцію імунофлуоресценції (НІФ), реакцію нейтралізації (РН), імуноферментний аналіз (ІФА), реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА), а також різні методи імуноферментного аналізу (Albina E., 1992; Cho H.J., 1997; Denac H., 1997; Dea S., 2000). Для серологічного використання найбільш перспективним вважається нуклеокапсидний протеїн (NP), оскільки, по-перше, саме на нього в інфікованих свиней утворюється найбільше вірусспецифічних антитіл проти збудника РРСС (Dea S., 2000). По-друге, нуклеокапсидний білок має загальні епітопи для антитіл проти європейської та американської генетичних груп вірусу РРСС (Morrison R.B., 1992; Dea S., 1999). Крім того, РПГА хоча і поступається за відтворюваністю й стандартністю діагностиків методам імуноферментного аналізу, проте за простотою постановки, собівартістю, специфічністю та чутливістю аналізу залишається дуже привабливим як для експрес-діагностики, так і скринінгу сироваток, особливо для використання у бюджетозаощаджувальних програмах моніторингу.

Зважаючи на це, метою наших досліджень було розроблення РПГА для забезпечення бюджетозаощаджувальних програм моніторингу РРСС з використанням у якості антигену нуклеокапсидного поліпептиду збудника цієї хвороби.

Матеріали і методи. Віруси та вірусні антигени. Вірус репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС), штам «Lelystad», з інфекційної активністю 3,0 Іг ТЦД_{50/см³} у культурі клітин MA-104 та 6,5 Іг ТЦД_{50/см³} в культурі клітин MARC-145. Нуклеокапсидний антиген вірусу РРСС виготовляли за протоколом, розробленим Cho H.J та ін. (1996) у нашій модифікації. А саме: з легень РРСС-зараженого сисунка (див. нижче) стерильним 0,5 % м розчином трлону Б на фізрозчині вимивали альвеолярні макрофаги, осаджували їх низькошвидкісним центрифугуванням і осад ресуспендували в гіпотонічному розчині хлориду натрію, тричі заморожували – відтаювали і після освітлення низькошвидкісним центрифугуванням баластні речовини спочатку видаляли преципітацією поліетиленгліколем з ММ 6000 (ПЕГ, кінцева концентрація 3,5 %), а потім іонообмінною хроматографією (DEAE-целюлоза, елюція 0,3М NaCl в 0,01М ФБР). Отриманий таким чином вірусний матеріал концентрували ПЕГ-ом у кінцевій концентрації 7,5 % та обробляли детергентом Triton X-100 у кінцевій концентрації 0,2 %. Останнім етапом процедури приготування нуклеокапсидного антигену вірусу РРСС в нашій модифікації була короткотривала екстракція детергенту хлороформом за температури 0-4 °С.

Вірус хвороби Ауескі (ХА), штам «18в-УНДІЕВ», з інфекційної активністю 7,5 Іг ТЦІД_{50/мл}, адаптований до перещеплюваних клітин РК-15. Нук-