

УДК 619:616-036.22

УНИВЕРСАЛЬНАЯ АНТИРАБИЧЕСКАЯ ВАКЦИНА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ И КРИТЕРИИ ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ

©2011 Н.М. Пухова, А.Я. Самуйленко, В.И. Еремец, Т.А. Ломакина, С.В. Лихашерстова

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности Россельхозакадемии», г. Щёлково

Поступила 13.07.2011

В данной статье описаны современные подходы к разработке технологии производства, системы качества и оценке эффективности антирабической вакцины.

Ключевые слова: вирус бешенства штамм «Щёлково-51», культура клеток ВНК-21, псевдосуспензионное культивирование, микроносители, референс-вакцина, референс-сыворотка, эффективность.

Мировая наука и практика показали, что борьба с бешенством должна быть направлена в первую очередь на предотвращение инфицирования человека и домашних животных путем прерывания цепи передачи инфекции на различных ее участках. Были определены основные направления предупреждения этого заболевания: вакцинация домашних животных, сокращение численности и вакцинация бродячих собак и кошек, устранение природного резервуара бешенства сокращением численности диких плотоядных млекопитающихся и оральная вакцинация.

В начале для борьбы с бешенством применялся метод искусственного ограничения численности резервуара и потенциальных переносчиков вируса в природе (отстрел, отлов, отравленные приманки, газация нор), но данная мера имела только вспомогательную роль и показала себя эффективной лишь в краткосрочной перспективе. При этом появились экономические, экологические и этические проблемы [1]. Затем немедикаментозные способы были запрещены, и основным путем борьбы с этим заболеванием была признана оральная вакцинация. Используя ее, многие европейские страны (Австрия, Бельгия, Финляндия, Франция, Люксембург и Швейцария) смогли значительно улучшить ситуацию по бешенству и даже полностью искоренить данную болезнь на своих территориях. Но при этом оставалась постоянная угроза заноса бешенства из сопредельных государств. Например, в Финляндии, свободной от бешенства с 1991 г., были выявлены несколько случаев бешенства, занесенных с импортированными животными и выходцами из неблагополучных по бешенству стран [2].

За весь период применения оральных антирабических вакцин распространены сотни миллионов

приманок. В результате в природу была введена обширная генетическая информация, что может привести переход возбудителя в авирулентное состояние и вызвать скрытую угрозу возникновения бешенства. Известны штаммы вируса бешенства, применяемые для производства оральных вакцин, имеющие остаточную вирулентность для некоторых видов млекопитающихся, и теоретически способные представлять опасность [3].

Несмотря на достигнутые успехи в ликвидации бешенства с помощью оральной вакцинации диких животных, на которую расходуются огромные средства, это заболевание продолжает наносить большой социальный и экономический ущерб. Сложная эпидемическая и эпизоотическая ситуация констатируется более чем в 110 стран мира. Наблюдается активизация природных очагов и тенденция возврата бешенства в те районы, где оно было раньше ликвидировано. Это объясняется увеличением численности населения, миграциями людей и животных (особенно собак), а также невозможностью поддерживать программы борьбы с бешенством из-за экономического кризиса и высокой стоимости существующих вакцин. По данным ВОЗ, ежегодно в мире от бешенства умирает более 55 000 человек (в среднем, один человек каждые 10 мин), несмотря на то, что более 15 млн людей получают постэкспозиционное профилактическое лечение для предотвращения развития болезни [4].

В 99% случаев смерти людей от бешенства источником инфекции являются собаки. По данным ВОЗ, только 15% популяции собак получают вакцину от бешенства. Это свидетельствует о том, что при столь низком охвате вакцинацией не может произойти существенного снижения заболеваемости. В значительной мере сложившуюся обстановку связывают с низким качеством вакцин и эффективностью антирабической иммунизации.

Многолетний опыт иммунопрофилактики бешенства определил основные требования к антирабической вакцине – высокая иммуногенность, безопасность, стабильность при хранении, низкая цена и удобство в применении.

В нашей стране выпускается более десятка антирабических вакцин для животных. В ветеринар-

Пухова Нина Михайловна, канд. биол. наук, e-mail: vnitbp@mail.ru; Самуйленко Анатолий Яковлевич, докт. вет. наук, проф., e-mail: vnitbp@mail.ru; Еремец Владимир Иванович, докт. биол. наук, проф., e-mail: vnitbp@mail.ru; Ломакина Татьяна Акимовна, e-mail: vnitbp@mail.ru; Лихашерстова Светлана Викторовна, e-mail: Li_sv_vi@mail.ru

ной практике широко используются и импортные препараты, которые по цене значительно превосходят отечественные. Зарубежные жидкие инактивированные вакцины Deferson (США), Rabies (Голландия), Rabisin (Франция) имеют высокую иммуногенную потенцию, равную или превышающую 2,5 Международные единицы (МЕ), и при условии хранения 2-8°C сохраняют активность от 18 мес до 3 лет.

Во ВНИТИБП была разработана универсальная жидкая антирабическая вакцина УНИРЭВ, производство которой основано на современных биотехнологических методах: инфицированные вирусом бешенства (штамм Щелково-51) клетки перевиваемой линии ВНК-21, прикрепленные к поверхности микроносителей, культивировали в биореакторах в стандартной ростовой среде при 37°C с контролем основных параметров (рН, еН, рО₂, рСО₂ и др.); через 3 сут культивирования ежедневно производили замену питательной среды, отработанную среду, содержащую вирус, использовали для производства вакцинного препарата; в конце культивирования (6 сут) к общему объему охлаж-

денной до 4°C вирусосодержащей жидкости добавляли β-пропиолактон для инактивации вируса, гель гидроокиси алюминия (ГОА) в качестве адьюванта и 10% чистого этилового спирта как консервант.

Испытания жидкой инактивированной вакцины, проведенные общепринятыми методами, показали: препарат не содержит живого вируса, безвреден, не вызывает никаких аллергических реакций при введении животным, обладает высокой иммуногенной потенцией и антителоиндуцирующей активностью на уровне лучших зарубежных аналогов, сохраняет антирабический иммуноген при 6-8°C в течение 24 мес (срок наблюдения) на уровне 2,0-2,5 МЕ/мл [5]. В отличие от зарубежных аналогов данная вакцина не содержала антибиотиков и токсичных консервантов. Отсутствие в составе сапонина дает возможность использовать препарат для широкого круга животных, в том числе целевых животных.

Эффективность универсальной жидкой инактивированной антирабической вакцины УНИРЭВ и ее производства была определена по следующим показателям (рис.):

Рис. Показатели эффективности антирабической вакцины УНИРЭВ.



Социальная – вакцина эффективно защищает от бешенства крупный и мелкий рогатый скот, кошек, собак и других животных. Борьба с бешенством собак имеет чрезвычайно большое значение, поскольку большинство случаев заболевания людей связаны с укусами больных собак.

Биологическая – вакцина высоко иммуногена, стабильна в процессе хранения. Не содержит в своем составе антибиотиков, токсичных ртутьсодержащих препаратов типа тиомерсала. Этанол в используемой концентрации, является одним из лучших и безопасных консервантов, прошедших проверку временем. Известно, что 10% этанола в продукте угнетает микробный рост в 10-100 раз, поэтому вакцина защищена и от возможных случайных микробных контаминаций. Присутствие эта-

нола в вакцине способствует повышению антителоиндуцирующей активности в несколько раз [6].

Биобезопасность – вакцина не оказывает отрицательного воздействия на человека и животных, не содержит живого вируса. В ее состав не входит сапонин, который является токсичным для многих животных (собак, кошек, лошадей, свиней). При введении препарата животным не вызывается аллергических реакций и поствакцинальных осложнений. Контроль качества вакцины проводят с использованием национальных отраслевых стандартов референс-вакцины и референс-сыворотки.

Удобство в применении – вакцина выпускается в жидком виде, не требуется применения разбавителей. Высокая иммуногенная потенция позволяет расфасовывать препарат в однодозовые упаковки,

одна коммерческая доза препарата в 1 мл содержит не менее 2,0 МЕ активности. Низкодозная вакцина может применяться для профилактической и экстренной иммунизации широкого круга животных, в том числе и мелких домашних. Сохраняет иммуногенность при хранении в условиях бытового холодильника (6-8°C) более 24 мес, при 37°C – до 7 сут.

Технологичность – технология производства основана на современных методах биотехнологии. Получение вирусодержащего компонента вакцины проводят в биореакторах при контроле основных технологических параметров, что позволяет получать стандартные серии любого заданного объема. Исключается использование многочисленных культуральных сосудов. Вакцина выпускается в жидком виде, поэтому не требуется использование дорогостоящего оборудования для лиофильной сушки.

Экономическая – низкая себестоимость и конкурентоспособность. Отвечает международным требованиям к жидким вакцинам, по качественным показателям не уступает импортным вакцинам. Себестоимость препарата в биореакторах снижается на 30%. Фактический годовой экономический эффект в производстве вакцины УНИРЭВ, рассчитанный по разнице в себестоимости антирабической вакцины, производимой традиционным (роллерным) способом (себестоимость 1 тыс. доз составляет 9 тыс. руб.) и новым (псевдосуспензионным) способом (себестоимость 1 тыс. доз составляет 6,3 тыс. руб.) с учетом затрат на научную разработку составляет (9 тыс. руб. - 6,3 тыс. руб.) x 1,0 млн. доз - 600 тыс. руб. = 2,1 млн. руб. Потребность в вакцине десятки млн. доз.

Если учесть, что доля импорта ветеринарных вакцин растет с каждым годом и стоимость отечественных вакцин значительно ниже зарубежных аналогов, универсальная вакцина против бешенства животных (УНИРЭВ) вполне может стать конкурентоспособной на отечественном рынке и найдет

широкое применение в ветеринарной практике страны и за рубежом. Вакцина защищена патентом РФ (RU 2366457, 2009).

Мировой опыт борьбы с бешенством показывает возможность его искоренения, как среди диких, так и домашних животных. Разработана новая высокоэффективная безопасная антирабическая вакцина, которая является конкурентоспособной лучшим мировым аналогам.

Использование универсальной инактивированной низкодозной вакцины УНИРЭВ для проведения массовой вакцинации (как минимум 70%) популяции собак даст возможность уменьшить количество случаев этого опасного, в социальном и экономическом плане, заболевания, и, в конечном итоге, полностью его ликвидировать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Метлин А.Е., Рыбаков С.С., Михалишин В.В.* Оральная вакцинация диких плотоядных животных против бешенства // Ветеринария. 2009. № 8. С. 18-25.
2. *Metlin A.E., Holopainen R., Tuura S. et al.* Imported case of equine rabies in Finland: Clinical course of the disease and the antigenic and genetic characterization of the virus // J. Equine Veterin. Sci. 2006. V. 26. № 12. P. 584-587.
3. *Иванов В.С.* Бешенство животных: экспериментально-теоретическое обоснование разработки, производства, применения культуральных инактивированных вакцин и новые подходы к проблеме экстренной защиты ЦНС от возбудителя бешенства: Дис. ... докт. вет. наук. Щелково, 2001. 60 с.
4. Информационный бюллетень ВОЗ, № 99, сентябрь 2010.
5. *Салов Д.А., Иванов И.В., Иванов В.С. и др.* Иммуногенность отечественной низкодозной жидкой инактивированной антирабической вакцины «УНИРЭВ» в процессе хранения // Междунар. научно-практ. конф. ВНИТИБП: Материалы. Щелково. 2009. С. 175-179.
6. *Иванов В.С., Красуткин С.Н., Пухова Н.М. и др.* Перспективы использования этанола в качестве консерванта и инактиватора при производстве антирабических вакцин // Междунар. научно-практ. конф. ВНИИВВиМ: Труды. Покров, 2008. С. 154-157.

THE UNIVERSAL ANTIRABIC VACCINE FOR ANIMALS AND CRITERIAS OF HER EFFICIENCY

©2011 N.M. Pukhova, A.Y. Samuilenko, V.I. Eremets, T.A. Lomakina, S.V. Lihasherstova

All-Russian Research and Technological Institute of Biological Sciences Industry of RAAS, Shchelkovo

In this article we described modern methods development of technology of production, systems of quality and to the estimation of efficiency of antirabic vaccine.

Key words: rhabdovirus of st. "Щелково-51", culture of cells of BHK-21, pseudosuspension cultivation, microcarries, reference-vaccine, reference-serum, efficiency.

Pukhova Nina Michailovna, Candidate of Biology, e-mail: vnitibp@mail.ru; *Samuilenko Anatoliy Yakovlevich*, Doctor of Veterinary, Professor, e-mail: vnitibp@mail.ru; *Eremets Vladimir Ivanovich*, Doctor of Biology, Professor, e-mail: VIEremec@yandex.ru; *Lomakina Tatyana Akimovna*, e-mail:

vnitibp@mail.ru; *Lihasherstova Svetlana Viktorovna*, e-mail: vnitibp@mail.ru