

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЯ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКУМА
«ИЭКВМ ТУБЕРКУЛИН» ПРОИЗВОДСТВА «ДП ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА»**

В статье приводятся результаты сравнительного изучения эффективности ИЭКВМ-туберкулина (Украина) и ППД-туберкулина (Россия). Результаты лабораторных экспериментов показали, что оба туберкулина по физико-химическим показателям отличаются мало. В лабораторных опытах на морских свинках специфическая активность ИЭКВМ-туберкулина составляла 49,504 МЕ. Сравнительные производственные испытания, проведенные в хозяйствах, неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота, показали, что при симультанной туберкулинизации у реагирующего поголовья при внутрикожном введении ИЭКВМ-туберкулина в дозе 0,1 см³ 5000 ТЕ размеры толщины кожной складки составляли в среднем 4,6 мм, при введении ППД-туберкулина (Россия) – 3,8 мм.

Постановление проблемы и задания, анализ последних исследований. Известно, что борьба с туберкулезом основывается, главным образом, на санитарно-зооигиенических мероприятиях, улучшении кормления, регулярном исследовании и выявлении больных животных при помощи туберкулина. От его качества и правильного применения во многом зависит ликвидация туберкулеза среди сельскохозяйственных животных, в том числе и птиц [1; 2; 4]. Внутрикожная туберкулиновая проба является основным методом прижизненной диагностики туберкулеза у животных, которая используется для контроля за благополучием по туберкулезу стад крупного рогатого скота, а также для выявления больных туберкулезом животных при оздоровлении неблагополучных хозяйств [3]. Своевременная диагностика болезни и выяснение причин сенсибилизации организма во многом зависят от качества изготавливаемого туберкулина [5]. Диагностическая ценность туберкулина зависит от его физико-химических свойств, которые в значительной степени обуславливаются методом приготовления и очистки препарата. В туберкулине необходимы не только высокоспецифические субстанции, но и компоненты, обладающие сенсибилизирующим действием на макроорганизм [2; 6].

Современные методы стандартизации туберкулинов основаны на определении уровня биологической активности испытуемого препарата в отношении соответствующего эталона с постановки кожных проб. При этом

следует учитывать свойства самого препарата, а также степень сенсibilизации и специфичность аллергического ответа макроорганизма на туберкулин [2; 7].

В связи с этим работы многих исследователей посвящены разработке новых и совершенствованию имеющихся средств диагностики туберкулеза животных и птиц. Учитывая то, что до настоящего времени производство алергодиагностикумов у нас в Республике налаживается, пока приходится закупать его в других странах. В свою очередь, препараты, поступающие из-за рубежа, требуют тщательной проверки их активности, специфичности и других параметров. В нашей Республике для аллергической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в основном применяется ППД-туберкулин производства Курской биофабрики в дозе 0,2 см³. 10000 ТЕ [2]. В странах Европы и в других государствах применяется 5000 ТЕ доза туберкулина. У ученых нет единого мнения об образовании неспецифических реакций при применении повышенных доз туберкулина. По данным некоторых исследователей, 10000 и 5000 ТЕ дозы туберкулина дают аналогичные результаты [2; 4].

В связи с этим перед нами стояла задача провести сравнительное испытание туберкулезного алергодиагностикума ИЭКВМ-туберкулин производства «ДП Ветеринарная Медицина» (Украина).

Объекты и методика исследований. Согласно постановления ГГУ ветеринарии Республики Узбекистан № 7 от 26 ноября 2004 г. нами составлен проект исследований по сравнительному испытанию ППД-туберкулина для млекопитающих, производства ДП «Ветеринарная медицина» ИЭКВМ (Украина), завезенного в Республику Узбекистан 23.06.2004 г., серии № 1676/ № 151, изготовленной 08.01.2004 г. Лабораторно-производственные испытания препарата проводили согласно ТУ (технические условия) изготовителя.

Для контроля туберкулина готовый препарат проверяли на внешний вид, растворимость и однородность в растворе, стерильность, вакуум в ампулах и плотность укупорки флаконов, безвредность на лабораторных животных, реактогенность, специфическую активность на морских свинках и отсутствие сенсibilизирующих свойств на морских свинках в сравнении с контрольной серией, стандартизованной по международному стандарту ППД-туберкулина для млекопитающих.

Стерильность препарата проверяли высевом на питательные среды МПА и МПБ.

Реактогенность препарата проверяли на морских свинках. При этом на месте введения препарата не должно быть какого-либо воспалительного процесса.

Сенсibilизирующую особенность исследовали также на здоровых морских свинках, после предварительного введения туберкулина с интервалом 5 дней.

При этом в нем должна отсутствовать реакция организма на повторное введение препарата.

Специфическую активность препарата определяли, сравнивая ее с активностью, туберкулина контрольной серии на морских свинках, иммунизированных микобактерией БЦЖ.

В качестве контроля и сравнения использовали ППД-туберкулин производства Курской биофабрики (Россия).

Производственное испытание препарата проводили в АР Каракалпакстан в - районах в 2 неблагополучных по туберкулезу хозяйствах на 186 головах крупного рогатого скота. Для этого животным внутрикожно на депилированные участки с левой стороны в среднюю треть шеи вводили 0,1 см³ (5000 ТЕ) ИЭКВМ-туберкулина, с правой стороны шеи аналогично вводили 0,2 см³ (10000 ТЕ) ППД-туберкулина Курской биофабрики. Для внутрикожного введения аллергенов использовали безыгольные инъекторы БИ-7. Учет реакции проводили при помощи кутиметра через 72 часа после введения.

Результаты исследований. Определение внешнего вида исследуемого туберкулина проводили визуально. Препарат представляет собой прозрачную светло-коричневого цвета жидкость без механических примесей.

Стерильность туберкулина определяли путем высева образца препарата на питательные среды МПА и МПБ и инкубирования в термостате при температуре 37° С в течение 14 дней. Результаты высева показали, что препарат является стерильным.

Для определения реактогенности препарата у трех здоровых морских свинок-альбиносов с живым весом 300–350 г по бокам в области живота выбривали шерсть, место инъекции обрабатывали 70-процентным спиртом и внутрикожно вводили с одной стороны тела туберкулин испытуемой серии в дозе 500 МЕ в объеме 0,1 см³, с другой – контрольной серии туберкулина в той же дозе. Через 24 часа проверяли опытных животных, и на месте инъекции не было обнаружено никаких патологических изменений.

Для определения сенсибилизирующих свойств препарата брали 6 здоровых морских свинок с живым весом 300–350 г, которые не были использованы ни в каких опытах. Трех морским свинкам внутрикожно вводили трижды по 500 МЕ туберкулина в объеме 0,1 см³ с интервалом в 5 суток. Всех животных содержали в одной клетке. Через 15 суток после последней инъекции препарата трем опытным и трем контрольным животным повторно внутрикожно вводили исследуемый препарат в дозе 500 МЕ в объеме 0,1 см³. Учет реакции проводили через 24 часа после инъекции туберкулина. Было установлено, что на месте введения препарата отсутствовали патологические изменения.

Определение специфической активности в международных единицах (МЕ) туберкулина испытуемой серии проводили, сравнивая с туберкулином контрольной серии на сенсibilизированных вакцинным штаммом БЦЖ на 11 морских свинках. Морским свинкам-альбиносам внутримышечно вводили 1 мг взвеси живой культуры вакцины БЦЖ – на стерильном физиологическом растворе в объеме 1 см³ (Вакцина БЦЖ производство АО «УзФармпром» ГАК, Узбиофарм». Срок хранения – 2 года. Серия 151, КК 875). Место инъекции выбрили и обработали 70-градусным спиртом. Через 30 дней после иммунизации всех животных исследовали испытуемым туберкулином. В качестве контроля применяли ППД-туберкулин производства России.

Рабочие разведения аллергенов согласно ТУ приготовили следующим образом: приготовили смесь из 5 ампул туберкулина. 1 см³ туберкулина переносили в пробирку с 9 см³ стерильного физиологического раствора и перемешивали. Из этой пробирки 1 см³ туберкулина перенесли в другую пробирку с 4 см³ физиологического раствора и таким образом получили первое разведение туберкулина. Из второй пробирки 1 см³ раствора туберкулина переносили в пробирку с 9 см³ физиологического раствора и таким образом получили второе разведение туберкулина.

Таким же методом приготовили 3 и 4 разведения контрольной серии туберкулина, содержащие в 1 см³ 1000 и 100 МЕ соответственно.

Для приготовления разведений туберкулина контрольной серии использовали 5 флаконов аллергена с таким расчетом, чтобы в 1 см³ содержалось 50000 МЕ. Подготовленный аллерген в разных разведениях вводили внутрикожно каждой морской свинке в депилированные места кожи в дозе 0,1 см³ по два разведения с каждой стороны тела в условные места инъекций а, б, в, г. Расстояния между инъекциями составляло 40 мм.

Каждое разведение туберкулина вводили, используя отдельные шприцы, а каждое животное метили несмываемой краской.

Интенсивность реакции определили через 24 часа после введения аллергенов путем учета диаметров папулы, образовавшейся на месте введения туберкулина. Размеры папул перерисовали на целлофан с обозначением мест инъекций.

Активность туберкулина (А) в международных единицах (МЕ) вычисляли по формуле $A = (d_1 : d_2) \times 50000$, где d_1 – сумма средних диаметров папул на испытуемую серию, мм; d_2 – сумма средних диаметров папул на контрольную серию туберкулина, мм; 50000 – количество МЕ в 1 см³ основного раствора туберкулина контрольной серии.

Таблица 1. Результаты определения специфической активности ИЭКВМ-туберкулина на морских свинках

№ п/п	Место метки	Интенсивность реакции на туберкулин (мм)			
		1	2	3	4
1.	Метка не наносится	7,2	-	14	9,6
2.	Голова	15	9	25	15
3.	Спина	17	8	7	-
4.	Хвост	19,5	10	18	12
5.	Метка не наносится	18	8,4	19,5	11,2
6.	Голова	12	4	8,8	2,8
7.	Спина	10	5	10,5	8,8
8.	Голова	14	10	13,5	4,8
9.	Метка не наносится	18	8,8	12	4
10.	Голова	11	7	18	15
11.	Спина	22,5	14	18	5
	Итого	166,2	83,8	164,3	88,2

$$d_1 = 166,2 + 83,8 = 250,0 \text{ мм,}$$

$$d_2 = 164,3 + 88,2 = 252,5 \text{ мм.}$$

$$A = (250,0 : 252,5) \times 50000 = 49504 \text{ МЕ}$$

Результаты определения специфической активности ИЭКВМ-туберкулина в опытах на морских свинках показали, что она составила 49504 МЕ.

Производственное испытание ИЭКВМ-туберкулина на специфическую активность проводили в 2-х неблагополучных по туберкулезу крупного рогатого скота хозяйствах. В качестве контроля использовали ППД-туберкулин Курской биофабрики симультанно. Согласно инструкции испытание проводили в плане диагностических исследований на туберкулез. Для этого с левой стороны средней трети шеи вводили внутрикожно в дозе 0,1 мл ИЭКВМ-туберкулин, с правой стороны – ППД-туберкулин в дозе 0,2 см³ на голову. Учет реакции на аллергены проводили через 72 часа после введения. Результаты исследований приведены в таблице 2, где указаны только реагирующие на аллергены животные.

Таблица 2. Результаты определения специфической активности ИЭКВМ-туберкулина на крупном рогатом скоте в 1-м хозяйстве

№	Пол ж-х	Инв. №	ИЭКВМ туберкулин				ППД туберкулин			
			До введения, (в мм)	Через 72 часа, (в мм)	Разница, (в мм)	Результат	До введения, (в мм)	Через 72 часа, (в мм)	Разница, (в мм)	Результат
1.	телка	3	5	7	2	отр.	5	7	2	Отр.
2.	телка	1	8	14	6	Полож	8	13	5	Полож.
3.	телка	6	9	13	4	Полож	9	14	5	Полож.
4.	корова	60 а)	7	11	4	Полож	7	12	5	Полож.
5.	корова	33	10	12	2	отр.	10	12	2	Отр.
6.	корова	60 б)	7	12	5	Полож	7	8	1	Отр.
7.	корова	43	7	12	5	Полож	7	12	5	Полож.
8.	корова	60 в)	10	14	4	Полож	10	14	4	Полож.
9.	корова	10	8	15	7	Полож	8	11	3	Полож.
10.	корова	830	7	12	5	Полож	7	10	3	Полож.

Как видно из таблицы 2, в первом хозяйстве выявлено 7 голов, положительно реагирующих на аллергены животных. Интенсивность кожной реакции при введении ИЭКВМ-туберкулина составила у положительно реагирующих животных в среднем 3,9 мм, а при введении ППД-туберкулина Курской биофабрики этот показатель равен 3,5 мм.

Таблица 3. Результаты определения специфической активности ИЭКВМ-туберкулина на крупном рогатом скоте во 2-м хозяйстве

№	Пол ж-х	Инв.№	ИЭКВМ-туберкулин				ППД-туберкулин			
			До введения (в мм)	Через 72 часа (в мм)	Разница (в мм)	Результат	До введения (в мм)	Через 72 часа (в мм)	Разница (в мм)	Результат
1.	корова	60	8	13	5	Полож.	8	13	5	Полож.
2.	телка	4	7	13	5	Полож.	7	14	7	Полож.
3.	телка	30	6	7	1	Отр.	6	6	0	Отр.
4.	корова	00660	9	13	4	Полож.	9	12	3	Полож.
5.	корова	40	7	11	4	Полож.	7	11	4	Полож.
6.	корова	31	9	21	12	Полож.	9	20	11	Полож.

Во 2-м хозяйстве было обнаружено 6 голов животных, положительно реагирующих на аллергены. Средняя интенсивность кожной реакции при использовании ИЭКВМ-туберкулина составила 5,3 мм, а при использовании туберкулина Курской биофабрики – 4,1 мм.

После этого из каждого хозяйства выборочно проводили вынужденный комиссионный забой по 2 головы из числа реагирующих животных. При патологоанатомических исследованиях у всех животных были выявлены характерные для туберкулеза патологические изменения.

Выводы и перспектива дальнейших исследований:

1. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ИЭКВМ-туберкулин по физико-химическим параметрам соответствует требованиям ТУ.

2. Установлено, что специфическая активность аллергенов на морских свинках равнялась на 49504 МЕ.

3. В производственных испытаниях на крупном рогатом скоте определено, что ИЭКВМ-туберкулин в дозе 0,1 см³ 5000 МЕ по выявляемости не уступает ППД-туберкулину производства Курской биофабрики.

4. ДП «Ветеринарная медицина» ИЭКВМ-туберкулин в дозе 0,1 см³ 5000 МЕ можно широко применять для аллергической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах.

Литература

1. *Мамадуллаев Г.Х.* Профилактика туберкулеза животных / *Г.Х. Мамадуллаев* // Сельское хозяйство Узбекистана. – 2006. – № 1. – С. 28–30.

2. *Мамадуллаев Г.Х.* Значение дозы и введения ППД-туберкулина для млекопитающих при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота / *Г.Х. Мамадуллаев, Г.В. Ни* // Научное обеспечение ветеринарного благополучия животноводства Узбекистана: тез. докл. науч. конф. 70-летию образования УзНИВИ. – Самарканд, 1996. – С. 111–112.

3. *Назаров С.О.* О комплексном исследовании ППД-туберкулина крупного рогатого скота / *С.О. Назаров* // Кишоварз ТАУ. – 2002. – № 3. – С. 13–15.

4. Туберкулёз сельскохозяйственных животных / под. ред. *В.П. Шишкова, В.П. Урбана*. – М.: В О Агропромиздат, 1991. – 246 с.

5. *Тургенбаев К.А.* Аллерген для диагностики туберкулеза / *К.А. Тургенбаев, С.О. Кадыров, С.А. Тамгабаева* // Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях: материалы междунар. науч. практ. конф., посвященной 60-летию Таджикского НИВИ. – Душанбе, – 2003. – С. 77–79.

6. *Туткышбай И.А.* Перспективы использования разных туберкулинов для совершенствования аллергической диагностики туберкулеза животных / *И.А. Туткышбай* // Вестник с.-х. науки Казахстана. – Алматы, 2005. – № 6. – С. 53–54.

7. *Туткышбай И.А.* Совершенствование аллергической диагностики и искоренения туберкулеза крупного рогатого скота / *И.А. Туткышбай* // Мат. науч.

конф. «Перспективы развития животноводства в аридной зоне Казахстана». – Алматы: Бастау, 2005. – С. 186–188.
