

УДК: 619: 616. 98: 578. 825. 1: 615. 371: 636. 5

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ДОСЛІДНИХ ЗРАЗКІВ ПОЛІВАЛЕНТНОЇ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ХВОРОБИ МАРЕКА З МІСЦЕВИХ ШТАМІВ

Состін Д. Д., Стегній Б. Т., Стегній М. Ю.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: stegniy@vet.kharkov.ua

У статті представлені дані щодо оцінки ефективності двох дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

Ефективність вакцинації перевірено на курчатах. За даними ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція) встановлено наявність генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека у зразках очинів пір'я, відібраних від курчат, імунізованих першим дослідним зразком вакцини, що свідчить про репродукцію вакцинного вірусу в організмі курчат.

При проведенні досліджень з визначення нешкідливості двох дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека не відмічено клінічних ознак захворювання та випадків поствакцинальних ускладнень. У піддослідних курчат не реєстрували набряки та абсцеси в місці введення препарату, погіршення загального стану, відставання в рості та розвитку.

Про високу імуногенну активність першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека свідчила відсутність загибелі курчат із групи контролю імуногенної активності, патологоанатомічних змін та уражень органів, характерних для хвороби Марека.

Ключові слова: вірус хвороби Марека, нешкідливість, імуногенна активність, ефективність вакцинації

Хвороба Марека (ХМ, нейролімфоматоз птиці, ензоотичний нейроенцефаломієліт птиці, параліч птиці) – висококонтагіозне захворювання птиці, яке може перебігати у двох клінічних формах: класичній (ураження периферійної та центральної нервових систем) і гострій (лімфопроліферативне лейкозне захворювання). Класичний перебіг має два прояви: невральний, який супроводжується парезами та паралічами кінцівок, шиї, зоба та окулярний. Гострий перебіг хвороби Марека виявляється швидко та характеризується «транзитними» паралічами, ураженням внутрішніх органів, лімфоїдними набряками [1, 2].

До появи вакцин рівень захворюваності був нестабільним, що було пов'язано, в основному, з випадками епізоотичного поширення у певних географічних зонах. У курей ризик захворюваності та смертності дуже високий, навіть після вакцинації [3].

Після появи бівалентних і полівалентних вакцин встановлений прояв синергічного ефекту (ефективність одного вакцинного компоненту зростає від дуже низької дози другого) [4], що дозволяє застосувати меншу кількість вірусу в одній вакцинній дозі. Тому на сьогоднішній день на практиці успішно застосовуються вакцини, які включають серотипи 1+2, 2+3 та 1+2+3 [5].

ХМ є однією з найбільш поширеніших хвороб у птахівництві в усьому світі. У зв'язку з цим зросла необхідність вивчення даного захворювання та розробки заходів контролю та ефективної вакцинопрофілактики.

Матеріали та методи. На основі досліджень 2011–2012 років, проведених у лабораторії біотехнології ННЦ «ІЕКВМ» були підібрані штами-складові компоненти полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека. До складу досліджуваних серій вакцин входило: два виробничі штами SBG ВГК (вірус герпесу курей) другого серотипу, FC-126 ВГІ (вірус герпесу індичок) третього серотипу та атенуований, ареверсильбельний ізолят вірусу хвороби Марека першого серотипу 4/11, який був виділений у 2011 році під час моніторингових досліджень від хворих курей, атенуований виділений шляхом клонування у первинних і перещеплюваних культурах клітин і перевірений на реверсію вірулентності. Для проведення досліджень були виготовлені два зразки вакцини, які містили у своєму складі однакову кількість фокусоутворюючих одиниць (ФУО) кожного з виробничих штамів і різну кількість ФУО атенуованого, ареверсильбельного ізоляту вірусу хвороби Марека першого серотипу 4/11. Усі маніпуляції на піддослідних групах курчат проведені з дотриманням міжнародних правил біоетики [6, 7].

Проведені дослідження з визначення нешкідливості двох дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека. Разом з дослідженнями на нешкідливість проведені дослідження на визначення імуногенної активності дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

З цією метою для кожного зразка вакцини було сформовано по 5 груп курчат у кількості 20 (для першого зразка вакцини) і 18 (для другого зразка вакцини) голів у кожній. Першій групі курчат (контроль розріджувача) внутрішньом'язово в середній третині стегна вводили розріджувач в об'ємі 0,2 см³/гол. Другу групу курчат (контроль нешкідливості дослідного зразка полівалентної вакцини) імунізували внутрішньом'язово в середній третині стегна у п'ятикратній щепній дозі експериментальний зразок вакцини проти хвороби Марека в об'ємі 0,2 см³/гол. За курчатами цієї групи здійснювався нагляд понад 100 діб, звертаючи увагу на збереженість, фізіологічний розвиток піддослідної птиці та патологоанатомічні ураження органів, які вивчалися на розтині.

З третьою (контроль фізіологічного розвитку) і четвертою (контроль патогенності контрольного штаму ВХМ (вірус хвороби Марека) 1-го серотипу JM) групами курчат – ніяких маніпуляцій не проводилося. П'ятій групі курчат (контроль імуногенності

дослідного зразка вакцини) вводили внутрішньом'язово в середній третині стегна в однократній щепній дозі експериментальний зразок вакцини культуральної полівалентної проти хвороби Марека в об'ємі 0,2 см³/гол. Через 17 днів після вакцинації четверта та п'ята групи курчат кожного дослідного зразка вакцини були заражені контрольним штамом ВХМ 1-го серотипу JM (штам-пробійник) внутрішньочеревинно в об'ємі 0,2 см³/гол. За курчатами здійснювався нагляд протягом 142 днів (для першого дослідного зразка вакцини) і 120 днів (для другого дослідного зразка вакцини) для обґрунтування висновку з визначення імуногенної активності дослідних зразків полівалентної вакцини проти хвороби Марека.

Для оцінки ефективності дослідних зразків полівалентної вакцини проти хвороби Марека було сформовано ще по одній групі курчат (контроль ефективності дослідного зразка полівалентної вакцини) у кількості 10 голів у кожній. Курчат цих груп імунізували внутрішньом'язово в середній третині стегна дослідним зразком полівалентної вакцини в об'ємі 0,2 см³/гол. однократною щепною дозою. За курчатами здійснювався нагляд упродовж 17 днів, після чого їх знекровлювали, із дотриманням правил біоетики, та відбирали махове пір'я для визначення репродукції вакцинного вірусу (визначення наявності генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека) в організмі курчат за допомогою ПЛР.

Результати досліджень. Для оцінки ефективності двох дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека за курчатами груп контролю ефективності першого та другого дослідних зразків полівалентної вакцини велось спостереження впродовж 17 днів після вакцинації. Усі курчата цих груп були клінічно здорові. Після закінчення спостережень від курчат відбирали патологічний матеріал та проводили дослідження з визначення наявності генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека в організмі курчат за допомогою ПЛР. За даними проведених досліджень встановлено, що зразки біологічного матеріалу від курчат, що були щеплені першим дослідним зразком вакцини містять генетичний матеріал вірусу хвороби Марека, у той час, як проби біологічного матеріалу від курчат, що були щеплені другим зразком вакцини, не містили генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека. Це свідчить про ефективність лише першого дослідного зразка вакцини.

При перевірці нешкідливості двох дослідних зразків вакцини не відмічено клінічних ознак хвороби Марека як ні класичної, так ні гострої форм. Відсутні невральна та окулярна форми. При вибіркового розтині після закінчення експерименту в жодній з дослідних і контрольних груп не виявлено патологоанатомічних змін, характерних для хвороби Марека.

Неспецифічну загибель курчат у групах, які перевіряли першим дослідним зразком полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека відзначали тільки в перші десять днів після вакцинації:

- у першій групі (контроль розріджувача) – загинуло 2 курчати;
- у другій групі (контроль нешкідливості першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини у п'ятикратній щепній дозі) – загинуло 1 курча;
- у третій групі (контроль фізіологічного розвитку) – загинуло 2 курчати.

Що стосується другого дослідного зразка полівалентної вакцини, то неспецифічний відхід відмічався в наступних групах:

- у першій групі (контроль розріджувача) – загинуло 1 курча;
- у другій групі (контроль нешкідливості другого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини у п'ятикратній щепній дозі) – загинуло 2 курчати;
- у третій групі (контроль фізіологічного розвитку) – загинуло 4 курчати.

Неспецифічний відхід допускається в перші 10 днів життя курчат. Протягом подальшого спостереження не зафіксовано загибель і випадки поствакцинальних ускладнень. А саме: у піддослідних курчат не реєстрували набряки і абсцеси в місці введення препарату, погіршення загального стану, відставання в рості та розвитку.

Облік результатів досліді з імуногенної активності першого дослідного зразка вакцини проводили через 126 днів після зараження контрольним штамом-пробійником JM. При цьому було відзначено, що в четвертій групі курчат (контроль патогенності контрольного штаму ВХМ 1-го серотипу JM) загинуло 17 курчат. Окрім цієї групи падіж курчат більше не було виявлено в жодній з дослідних або контрольної груп. Усі курчата були клінічно здорові.

Надалі проведено знекровлення трьох курчат, що залишилися з групи контролю штаму пробійника з дотриманням правил біоетики. У курчат цієї групи спостерігали клінічні ознаки хвороби Марека (парез ніг і загальне пригнічення), вони значно відставали в рості та розвитку (рис. 1). Під час розтину було відібрано кров, печінку, селезінку, залозистий шлунок та очини пір'я для проведення ПЛР-тестів з метою виявлення генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека. За результатами досліджень встановлено, що у зразках патологічного матеріалу міститься генетичний матеріал вірусу Gallid herpesvirus 2 (збудник хвороби Марека, I серотипу).

На 142 добу після введення штаму пробійника було завершено дослід із вивчення імуногенної активності першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека. Падіж курчат не було виявлено в жодній з дослідних або контрольної груп, крім групи контролю штаму-пробійника. Усі курчата були клінічно здорові. Після завершення спостережень курчат п'ятої (контроль імуногенності першого дослідного зразка вакцини) і першої (контроль фізіологічного розвитку) груп знекровлювали вибірково, з дотриманням правил біоетики та проводили їх патологоанатомічний розтин.

Вибірковий патологоанатомічний розтин показав відсутність патологоанатомічних змін та уражень органів, характерних для хвороби Марека у курчат з дослідних та контрольних груп. Як додатковий тест було проведено ПЛР-дослідження, за даними якого відібраний для дослідження матеріал виявився вільний від генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека. Вищенаведене дозволяє зробити висновок про імуногенність першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

Облік результатів досліді щодо вивчення імуногенної активності другого дослідного зразка вакцини проведено на 120 добу спостереження. При цьому відзначали, що в четвертій групі курчат (контроль патогенності контрольного штаму ВХМ 1-го

серотипу JM) під час проведення досліджу загинуло 3 курчати. Окрім цієї групи, падіж курчат більше не було виявлено в жодній з дослідної або контрольної груп. Усі курчата були клінічно здорові.



Рис. 1. Парез ніг і загальне пригнічення курчати з групи контролю штаму пробійника

Курчат четвертої (контроль патогенності контрольного штаму ВХМ 1-го серотипу JM) і п'ятої (контроль імуногенної активності другого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини) груп було знекровлено з дотриманням правил біоетики і проведено їх патологоанатомічний розтин. Патологоанатомічний розтин показав відсутність патологоанатомічних змін та уражень органів, характерних для хвороби Марека у курчат з групи контролю імуногенної активності.

У трьох курчат четвертої групи (контроль штаму пробійника) були виявлені ділянки уражень у вигляді салоподібних новоутворень на серці та печінці (рис. 2). Під час проведення розтину відбирали патологічний матеріал з подальшою перевіркою його за допомогою ПЛР. За результатами досліджень було встановлено, що тільки один зразок біологічного матеріалу містить генетичний матеріал ВХМ.



Рис. 2. Салоподібні новоутворення на серці у курчати з групи контролю штаму пробійника

Оскільки в четвертій групі (контроль штаму пробійника) при проведенні досліджень загинуло лише три курчати і у трьох курчат цієї групи виявлено специфічні зміни хвороби Марека (кульгавість, зміни у залозистому шлунку та інших органах), а вірус хвороби Марека виявлено тільки в одного курчати (менше ніж 40 %), то це не дозволяє зробити висновок про ефективність другого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

Висновки. 1. При проведенні досліджень з визначення нешкідливості двох дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека у п'ятикратній щепній дозі не відмічено клінічних ознак захворювання та випадків поствакцинальних ускладнень (у піддослідних курчат не реєстрували набряки і абсцеси в місці введення препарату, погіршення загального стану, відставання в рості та розвитку), що свідчить про нешкідливість обох експериментально-дослідних зразків полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

2. Загибель майже всіх курчат у групі контролю штаму пробійника з характерними ознаками хвороби Марека та відсутність загибелі курчат із групи контролю імуногенної активності першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини та відсутність патологоанатомічних змін і уражень органів, характерних для хвороби Марека в цій групі свідчать про високу імуногенну активність першого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

3. Відсутність загибелі курчат з групи контролю ефективності першого дослідного зразка вакцини, патологоанатомічних змін та уражень органів, характерних для хвороби Марека в цій групі та наявність генетичного матеріалу вірусу хвороби Марека у зразках, перевірених за допомогою ПЛР, свідчать про репродукцію вакцинного вірусу в організмі курчат, що дозволяє зробити висновок про ефективність першого дослідного зразка та неефективність другого дослідного зразка полівалентної культуральної вакцини проти хвороби Марека.

Список літератури

1. Красников, Г.А. Иммунологические и гистологические аспекты патогенеза и поствакцинальных изменений при болезни Марека // Ветеринарна медицина (Актуальні проблеми ветеринарної медицини в умовах сучасного ведення тваринництва) [Текст] / Г.А. Красников, Б.Т. Стегний, П.И. Вербицкий, В.С. Коровин // ІЕКВМ. – Харків, 2003. – Вип. 82. – С. 322-328.
2. Стегний, Б.Т. Определение безвредности и иммуногенной активности опытных образцов поливалентной вакцины против болезни Марека [Текст] / Б. Т. Стегний, М. Ю. Стегний, Д. Д. Состин // Ученые Записки УО ВГАВМ. — 2016. — Т. 52. — Вып.3. — С. 90-94.
3. Witter, R.L. Review: Vaccines and vaccination against Marek's disease // Proc. Intern. Symp. Marek's Dis. / ed. B.W. Calnek, J.L. Spencer; Am. Assoc. Avian Pathologists. – Kennett Square, PA, 1985. – P. 482-500.
4. Білецька, Г. В. Материнський імунітет та його роль при вакцинації птіці проти хвороби Марека [Текст] / Г. В. Білецька // Птахівництво: міжвідом. темат. наук. зб. – Х., 2011. – Вип. 67. – С. 26-28.
5. Кэлнек, Б.У. Болезнь Марека [Текст] / Б.У. Кэлнек, Р.Л. Виттер // Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц. – М.: «Аквариум», 2003. – С. 426-479.
6. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Хроника ВОЗ. – 1985. – Т. 39, № 3. – С. 3–9.
7. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р.: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). – Електронний ресурс. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0...>

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF EXPERIMENTAL SAMPLES OF POLYVALENT CULTURAL VACCINE AGAINST MAREK'S DISEASE FROM LOCAL STRAINS

Soštin D. D., Stegny B. T., Stegny M. Yu.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

The article presents data on the effectiveness of two prototypes of a polyvalent culture vaccine against Marek's disease.

The effectiveness of vaccination was tested on chickens. According to the PCR (polymerase chain reaction) data, the presence of the genetic material of the Marek's disease virus in the samples of the chick taken from chicks immunized with the first prototype vaccine testifies to the reproduction of the vaccine virus in the chickens.

When conducting studies to determine the harmlessness of two prototypes of a multivalent culture vaccine against Marek's disease, no clinical signs of the disease and cases of post-vaccination complications. Experimental chicks did not register edema and abscesses at the injection site, deterioration of the general condition, retarded growth and development.

The high immunogenic activity of the first prototype of the polyvalent culture vaccine against Marek's disease was testified by the absence of death of the chicks from the control group of immunogenic activity, pathological changes and organ damage characteristic of Marek's disease.

Keywords: *Marek's disease virus, safety, immunogenic activity, efficiency of vaccination*