

УДК 619:616.98:578:616-085.371:619.5

АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ВАКЦИНИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ ТА СИНДРОМУ ЗНИЖЕННЯ НЕСУЧОСТІ

Стегній Б. Т., Музика Д. В., Стегній А. Б., Рула О. М., Ткаченко С. В., Кошелєв В. В., Колесник О. С.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua, dmuzyka77@gmail.com

А. Харітх Абдулла

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків

У статті наведена інформація щодо розробки сучасного вакцинного препарату для профілактики інфекційних захворювань курей – ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК) і синдрому зниження несучості (СЗН). Показано, що формальдегід та етиленімін повністю інактивують інфекційну активність зазначених вірусів, при цьому антигенна активність залишалася на високому рівні: через 120 діб після імунізації курей-молодок 70 добового віку титри антитіл до вірусів НХ, ІБК та СЗН були на рівні $7,0 \pm 0,89$ (в РЗГА); 2747 ± 613 (в ІФА) та $9,44 \pm 0,94$ (в РЗГА) відповідно. Також дослідний зразок вакцини при введенні курам-молодкам не викликав в місці введення запальних та некротичних процесів, тобто вакцина не реактогенна.

Ключові слова: вірус ньюкаслської хвороби, вірус інфекційного бронхіту курей, вірус синдрому зниження несучості, вакцина.

Сучасні промислові технології утримання сільськогосподарської птиці потребують комплексного підходу до профілактики найбільш розповсюджених інфекційних захворювань. Загальні ветеринарно-санітарні заходи ефективно доповнюють специфічною профілактикою з застосуванням масових імунізацій живими та інактивованими вакцинами. Збереженість племінного ядра птахопоголів'я є важливим завданням для ветеринарних спеціалістів птахофабрик. З метою вирішення цього питання використовують схеми вакцинації, які передбачають первинну (одноразову або багаторазову) вакцинацію молодняка птиці з наступною «бустерною» вакцинацією інактивованими препаратами.

Засоби реалізації такої схеми можуть варіювати в залежності від епізоотичної ситуації, яка складається на птахівничому підприємстві, напрямку його продуктивності та рекомендацій виробника вакцин [1, 2, 3, 4]. При цьому необхідно відмітити той факт, що при вакцинації птиці інактивованими препаратами, на відміну від використання живих вакцин, процедуру важливо проводити з кожною птицею окремо, що може негативно сказатися на загальній продуктивності. Особлива гострота виникає в тих випадках, коли виникає необхідність проводити імунізацію проти декількох інфекційних захворювань за наявності мовалентних варіантів вакцин.

У багатьох птахівничих господарствах найчастіше проводять специфічну профілактику проти таких збудників інфекційних захворювань, як ньюкаслська хвороба (НХ), інфекційний бронхіт курей (ІБК), інфекційна бурсальна хвороба (ІБХ) і синдром зниження несучості (СЗН). Тому застосування в промисловому птахівництві інактивованих вакцин з комбінацією декількох вірусних антигенів є очевидним.

До переваг асоційованих препаратів перед мовалентними варіантами можна віднести зниження дії стресових чинників на птицю при проведенні масових вакцинацій, зменшення при цьому трудовитрат, можливість змінювати антигенний склад асоційованих вакцин залежно від конкретної ситуації на окремих птахофабриках, тобто, з врахуванням вимог замовника [1, 2, 5, 6, 7].

Виходячи з викладеного, співробітниками відділу з вивчення вірусних хвороб птиці Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» з метою практичного застосування розробляється асоційована вакцина проти НХ, ІБК і СЗН. У даній статті викладена інформація відносно антигенної активності компонентів експериментальної серії біопрепарату.

Мета роботи. Враховуючи швидкі темпи розвитку в Україні галузі птахівництва з метою забезпечення ветеринарними препаратами вітчизняного виробництва була поставлена задача розробити сучасний вакцинний препарат, який не поступався б імпортованим за показником антигенної активності.

Матеріали та методи. Визначення антигенних властивостей компонентів вакцини починали з вивчення інфекційної активності штамів, що входять до складу вакцини. Для цього проводили титрацію вірусів НХ та ІБК на курячих ембріонах (КЕ), а вірусу СЗН – на качиних ембріонах (КачЕ). Для цього робили десятиразові розведення вірусмішуючої рідини на фосфатно-сольовому буфері з додаванням антибіотиків. Кожним розведенням заражали по 4 ембріони. Розрахунок інфекційної активності проводили за формулою Ріда та Менча.

Інактивацію інфекційних властивостей вірусу проводили формаліном у кінцевій концентрації 0,5 % за температури 37 °С протягом 24 годин (вірус ІБК) та етиленіміном у кінцевій концентрації 0,2 % (НХ і СЗН). Контроль повноти інактивації проводили шляхом зараження КЕ та КачЕ відповідними вірусами протягом 3 пасажів. При цьому звертали увагу на наявність гемаглютинуючої активності екстраембріональної рідини (для вірусів НХ і СЗН) і патологічних змін ембріонів (вірус ІБК).

Для приготування експериментальних серій вакцини використовували ад'ювант «Montanide ISA-70» (Seppic, Франція) із співвідношенням антигенів і ад'юванту 30:70. З метою забезпечення стабільності емульсії компоненти змішували протягом 10–15 хвилин шляхом інтенсивного перемішування до утворення первинної емульсії, а після цього – шляхом високошвидкісного перемішування на лабораторному емульгаторі з частотою обертів 1500 об/хв. протягом 5 хвилин. Отриманий вакцинний препарат зберігали за температури (4-8) °С в умовах холодильної камери.

Вивчення реактогенних властивостей вакцини проводили на курах-молодках 70-добового віку. Для цього внутрішньом'язово в ділянку грудних м'язів інокулювали препарат в об'ємі 0,5 см³. Потім проводили щоденний огляд на предмет виявлення змін на місці введення вакцини та загального стану.

Визначення антигенних властивостей компонентів вакцини проводили на курах-молодках 70-добового віку, частину яких імунізували внутрішньом'язово в дозі 0,5 см³, а 10 курей залишили неімунізованими як контрольну групу. Відбір крові з метою отримання сироваток проводили до вакцинації, а також через 14, 30, 45, 60, 90 і 120 діб після її проведення. Сироватки крові досліджували в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) на наявність антитіл до вірусів НХ і СЗН, а також методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-системи виробництва ННЦ «ІЕКВМ» на наявність антитіл до вірусу ІБК.

Результати досліджень. При визначенні інфекційної активності вірусів НХ, ІБК і СЗН отримали наступні результати: активність вірусу НХ склала 9,6 lg EID₅₀/0,2 см³, вірусу ІБК – 6,8 lg EID₅₀/0,2 см³, вірусу СЗН – 7,9 lg EID₅₀/0,2 см³. Титри гемаглютинуючої активності вірусів НХ і СЗН склали відповідно 13 і 15 log₂. При дослідженні рівня антитіл в ІФА до вірусу ІБК титри до 1070 вважали негативними, а 1071 і вище – позитивними. Інтерпретацію результатів рівня антитіл до гемаглютинуючих вірусів проводили з урахуванням мінімального титру 5 log₂.

Результати досліджень титрів антитіл до і після вакцинації по кожному з антигенних компонентів приведені в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1 – Результати наявності антитіл у сироватках крові курей до вакцинації

Антигенний компонент	Фактичні титри
НХ	4,3±1,1
ІБК	927±315
СЗН	0

Таблиця 2 – Результати наявності антитіл у сироватках крові імунізованих курей

Антигенний компонент	Титри антитіл					
	Фактичні титри, доба спостережень					
	14 діб	30 діб	45 діб	60 діб	90 діб	120 діб
НХ	8,9±1,1	8,4±1,07	8,5±0,71	7,9±0,99	7,67±1	7,0±0,89
контроль	3,7±0,33	3,5±0,41	3,0±0,39	3,1±0,33	3,12±0,5	3,27±0,33
ІБК	3877±1391	3033±936	4242±2170	3883±1868	3886±1406	2747±613
контроль	893±561	911±44	824±501	884±519	711±364	708±401
СЗН	8,5±1,08	10,4±1,07	10,6±0,52	9,7±0,95	9,78±0,83	9,44±0,94
контроль	0	0	0	0	0	0

Встановлено, що вакцина має високу антигенну активність відносно вірусу НХ і викликала утворення специфічних до нього антитіл у титрах 8,9±1,1 вже на 14 добу. Надалі титри антитіл у дослідної птиці зменшувалися приблизно на 0,5 log₂ за місяць. Так, через 60, 90 і 120 діб вони знаходилися на рівні 7,9±0,99; 7,67±1 і 7,0±0,89.

Також встановлено, що вакцина має високу антигенну активність відносно вірусу ІБК: інактивованій компонент вакцини викликав утворення специфічних до нього антитіл в титрі 3877±1391 вже на 14 добу, що в кілька разів вище мінімальних протективних. Далі рівень антитіл підвищувався на 45 діб до рівня 4242±2170, а в сироватці крові дослідної птиці у віці 120 діб склав 2747±613.

Дослідженнями встановлено, що вакцина володіє високою антигенною активністю і відносно вірусу СЗН: на 14 добу титр специфічних антитіл складав $8,5 \pm 1,08$. Через 45 діб після імунізації титр антитіл досягав свого максимуму ($10,6 \pm 0,52$) і потім знижувався до $9,44 \pm 0,94$ на 120 добу.

Хотілося б відзначити, що компоненти вакцини викликали формування титрів антитіл, які значно перевищували мінімальні захисні титри, що виражають протективний захист від відповідних інфекцій.

Через 21 добу після вакцинації при проведенні діагностичного забою проводили огляд місця введення вакцини, результатом чого була відсутність в ньому залишків емульсії, запальних процесів і некротизованих ділянок.

Висновки. Таким чином, асоційована інактивована вакцина проти НХ, ІБК та СЗН має високу антигенну активність відносно всіх специфічних складових компонентів, є нереактогенною та може бути використана для профілактики вказаних інфекцій у птахівничих господарствах.

Список літератури

1. Ассоциированная инактивированная вакцина против синдрома снижения яйценоскости-76, инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, реовирусного теносиновита и инфекционной бурсальной болезни птиц и её физико-биологические свойства / В.В. Борисов, Д.А. Лозовой, Д.Л. Долгов [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – Владимир, 2005. – Т. 3. – С. 292-302
2. Бирман, Б.Я. Опыт ассоциированной иммунизации птиц против инфекционного бронхита и ньюкаслской болезни / Б.Я. Бирман, В.П. Голубничий, Е.А. Лейкинд // Вет. наука – произ-ву. – Минск, 1992. – Вып. 30. – С.15-18.
3. Будненко, А.А. Новые принципы вакцинопрофилактики для достижения высокой сохранности и продуктивности / А.А. Будненко, Ф.И. Полежаев, Э.Д. Джавадов // Ветеринарный Вестник Одесщины. – 2002. – С.2
4. Ельников, В.В. Испытания ассоциированной инактивированной вакцины против ньюкаслской болезни и реовирусного теносиновита птиц // В.В. Ельников, С.К. Старов, Л.В. Вдовина // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2004. – Вип. 84. – С 308-311.
5. Джавадов, Э.Д. Опыт применения поливалентной инактивированной вакцины «Авикрон» для молодняка домашней птицы / Э.Д. Джавадов, А.С. Дубовой, Ф.И. Полежаев // Матер. конф. по птицеводству. – Зеленоград, 2003. – С. 208-216.
6. Дубовой, А.С. Ассоциированные инактивированные вакцины для профилактики вирусных болезней птиц / А.С. Дубовой // Материалы науч.-произв. конф. посвящ. 190-летию высшего вет. обр. в России и 100-летию вет. науки: Ч. 1. – СПб, 1998. – С. 74-75.
7. Дубовой, А.С. Иммуитет у птицы, привитой поливалентной инактивированной эмульсинвакциной «Авикрон» / А.С. Дубовой, Э.Д. Джавадов, Ф.И. Полежаев // Ветеринария. – 2004. – №4. – С. 13-14.

ANTIGENIC PROPERTIES OF THE VACCINE TO PREVENT NEWCASTLE DISEASE, INFECTIOUS BRONCHITIS AND EGG DROP SYNDROME

**Stegniy B.T., Muzyka D.V., Stegnyy A.B., Rula O.M., Tkachenko S.V.,
Koshelev V.V., Kolesnik O.S.**

National Scientific Center «Institute of experimental and clinical veterinary medicine», Kharkiv

A. Khartih Abdulla
Kharkiv State Zooveterinary Academy

Purpose of the work. Given the rapid pace of development of the poultry industry in Ukraine to ensure domestic production of veterinary drugs has been tasked to develop a modern vaccine preparation in terms of antigenic activity was not inferior to foreign analogues.

Materials and Methods. Determination of the antigenic properties of the vaccine components began with the study of infectious activity of the strains included in the vaccine. Titration was carried out for this virus NDV and IBV in chick embryos virus and EDS – to duck embryos. For this tenfold dilutions were prepared for virus-containing fluids with phosphate -buffered saline supplemented with antibiotics. Each dilution were infected by 4 embryos. Calculation of infectious activity was carried out by Reed and Muench formula.

The inactivation of viruses infectivity were performed in a final formalin concentration of 0.5 % at 37 °C for 24 hours (virus IBV) and ethylenimine at final concentration of 0.2 % (NDV and EDS). Control of completeness of inactivation was carried out by chick embryos infection and duck embryos respective viruses for 3 passages. At the same time pay attention to the presence of hemagglutinating activity (NDV and EDS), and the pathological changes of embryos virus (IBV).

Results. The technological regulation bioproduct manufacturing "Inactivated associated vaccine to specifically prevent Newcastle Disease virus, Infectious Bronchitis virus and Egg Drop Syndrome".

Conclusions. Developed vaccine is highly antigenic activity. So, after 120 days post immunization antibodies to viruses NDV, IBV and EDS were respectively $7,0 \pm 0,89$ (in HI); 2747 ± 613 (ELISA) and $9,44 \pm 0,94$ (HI). It should be noted that the diagnosed antibody titers were much higher than the minimum protective titers, which express a protective protection of related infections. 21 days after vaccination site residues absent vaccine, inflammatory and necrotic tissue. Thus, associated inactivated vaccine against ND, IBV and EDS has a high antigenic activity regarding any specific component is not reactogenic and can be used to prevent these infections in poultry farms.

Keywords: Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, egg drop syndrome virus, vaccine.