

5. The "Kit..." is designed accordingly to TU U 24.4-00497087-0092:2009, tested, registered (registration certificate BB-00228-06-10 dated 06.07.2010) and introduced into production. It can be used in laboratories of veterinary medicine of different departmental affiliation to control epizootic situation concerning poultry pasteurellosis (cholera), estimate the effectiveness of specific preventive maintenance, determine the optimal time for poultry immunization and revaccination, appearance of passive immunity to the pasteurellosis bacteria, as well as to make retrospective diagnosis, find post-infection immunity and forecast.

**Keywords:** poultry pasteurellosis (cholera), kit for diagnosis of poultry pasteurellosis (cholera), reaction of indirect hemagglutination, antigen, poultry serum, activity, specificity.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.371:616-091:636.521.58

### ВИЗНАЧЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ ДОСЛІДНИХ ЗРАЗКІВ ТРЬОХВАЛЕНТНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ХВОРОБИ МАРЕКА

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

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

У статті представлені результати досліджень з нешкідливості дослідних зразків трьохвалентної вакцини з використанням ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11, які були випробовані на добових курчатах.

Під час дослідів у вакцинованих курчат не було зафіксовано жодного випадку поствакцинальних ускладнень. Клінічні спостереження за щепленими курчатами свідчать про те, що експериментальні зразки вакцини є нешкідливими, застосування препарату не викликає негативних наслідків. А саме: у дослідних курчат не реєстрували набряки та абсцеси у місці введення, погіршення загального стану, відставання в рості та розвитку. Під час спостереження у курчат не було зареєстровано ніяких побічних реакцій та відхилень від фізіологічних норм, характерних для даного виду птиці.

Дослідні зразки вакцини можна вважати нешкідливими, тому що під час усього періоду спостереження всі дослідні курчата залишилися живими без будь-яких місцевих і симптоматичних проявів, спричинених вакциною. Патологоанатомічні зміни, характерні для хвороби Марека, під час розтину піддослідних курчат також не були зафіксовані.

**Ключові слова:** ізолят, вірус хвороби марека, контроль нешкідливості, однодобові курчата, вакцинопрофілактика, патологоанатомічні зміни.

Хвороба Марека (ХМ) – це лімфопроліферативна хвороба курей, яка спричиняється клітинно-асоційованим герпесвірусом [1, 8]. Захворювання проявляється у двох формах – у класичній паралітичній формі, з одночасним ураженням райдужної оболонки зіниць очей, і в гострій формі, з утворенням лімфоїдних пухлин у внутрішніх органах, шкірі, скелетних м'язах [11].

Вірус хвороби Марека (ВХМ) характеризується чітко вираженим тропізмом щодо Т-лімфоцитів, у яких тривалий час перебуває. Вірулентність збудника хвороби варіює в значних межах. Високовірулентні штами викликають гострий перебіг хвороби, менш вірулентні – класичну форму. В одному і тому ж поголів'ї тварин може циркулювати збудник різної вірулентності. Вірус володіє інтерференогенною, а також значною імуногеннодепресивною активністю, знижуючи загальну резистентність, імунобіологічну толерантність птиці, і підвищує її сприйнятливність до інших захворювань [2, 9, 10].

У природних умовах до хвороби Марека найчутливіші кури та індики. Можуть хворіти перепілки, фазани, качки, лебеді, голуби, канарки, куріпки, горлиці, горобці, щегли, майни [4, 5].

Хвороба Марека є поширеною та небезпечною інфекцією серед птахопоголів'я, збудник якої належить до списку В, згідно з класифікацією Міжнародного епізоотичного бюро (ОІЕ) [6]. Хвороба Марека реєструється практично в усіх країнах світу. Захворюваність птиці коливається від 25 до 60 % [7]. Збитки внаслідок перехворювання та загибелі птахопоголів'я у світі щорічно зростають та приблизно становлять 1 млрд американських доларів [6].

Засоби лікування захворювання не розроблені. Єдиним ефективним методом боротьби та профілактики хвороби Марека на сьогодні є обов'язкова вакцинація курчат у добовому віці [3].

**Мета роботи** – вивчити механізм дії дослідних зразків трьохвалентної вакцини на організм курчат і отримати достовірні дані щодо нешкідливості цих зразків.

**Матеріали та методи.** У 2011 році науковцями лабораторії біотехнології ННЦ «ІЕКВМ» з патологічного матеріалу були виділені та ідентифіковані ізоляти вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11. Потім вони були адаптовані до клітин ФЕК і атенуйовані на первинній та перещеплюваній культурах клітин. Це ДНК-вмісні віруси, які відносяться до родини *Herpesviridae*, підродина  *$\alpha$ -Herpesvirinae*, роду *Herpesvirus*. Не патогенні для людей, характеризуються виразною антигенною активністю. Атенуйовані ізоляти ВХМ 1-го серотипу перевірені на реверсію вірулентності та є ареверсибельні.

У цьому році було виготовлено три дослідних зразки полівалентної вакцини на основі 3-х серотипів ВХМ.

Нешкідливість дослідних зразків трьохвалентної вакцини з використанням ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11 перевірено за біопробою на курчатах добового віку. З цієї метою було сформовано 5 груп однодобових курчат по 20 голів у кожній: перша група – контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, друга група – контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 4/11, третя група – контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 5/11, четверта група – контроль розріджувача, п'ята група – контроль фізіологічного розвитку. Виготовлені три дослідні зразки вакцини склалися з двох виробничих штамів вірусу герпесу курей другого серотипу, вірусу герпесу індиків третього серотипу та одного з трьох атенуйованих, ареверсибельних ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу: 3/11, 4/11, 5/11 відповідно. Дослідні зразки вакцини були введені внутрішньочеревинно відповідним групам курчат в об'ємі по 0,2 см<sup>3</sup>/гол у десятикратній щепній дозі. Четвертій групі (контроль розріджувача) було введено розріджувач внутрішньочеревинно в об'ємі 0,2 см<sup>3</sup>/гол. З п'ятою групою (контроль фізіологічного розвитку) ніяких маніпуляцій не проводили.

За курчатами здійснювався нагляд впродовж 40 діб. Результати дослідів враховувалися за збереженістю, фізіологічним розвитком піддослідних курчат і патологоанатомічними ураженнями органів, які були вивчені на розтині.

**Результати досліджень.** За курчатами здійснювався нагляд впродовж 40 діб. За результатами досліджень у перші дві доби було відмічено неспецифічну загибель курчат:

- у першій групі (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11) – 1 гол.;
- у другій групі (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 4/11) – 2 гол.;
- у третій групі (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 5/11) – 2 гол.;
- у четвертій групі (контроль розріджувача) – 1 гол.;
- у п'ятій групі (контроль фізіологічного розвитку) – загибель курчат не спостерігалася.

Впродовж подальшого спостереження жодне з курчат не загинуло, не було зафіксовано випадків поствакцинальних ускладнень, а саме: у дослідних курчат не реєстрували набряки та абсцеси у місці введення препарату, погіршення загального стану, відставання в рості та розвитку.

Після закінчення спостережень з кожної групи було забито декілька голів курчат, з дотриманням міжнародних правил біоетики, з метою визначення наявності чи відсутності патологоанатомічних змін у внутрішніх органах.

Результати досліджень, в яких вивчали нешкідливість трьох дослідних зразків трьохвалентної вакцини з використанням ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11, наведені у таблиці 1.

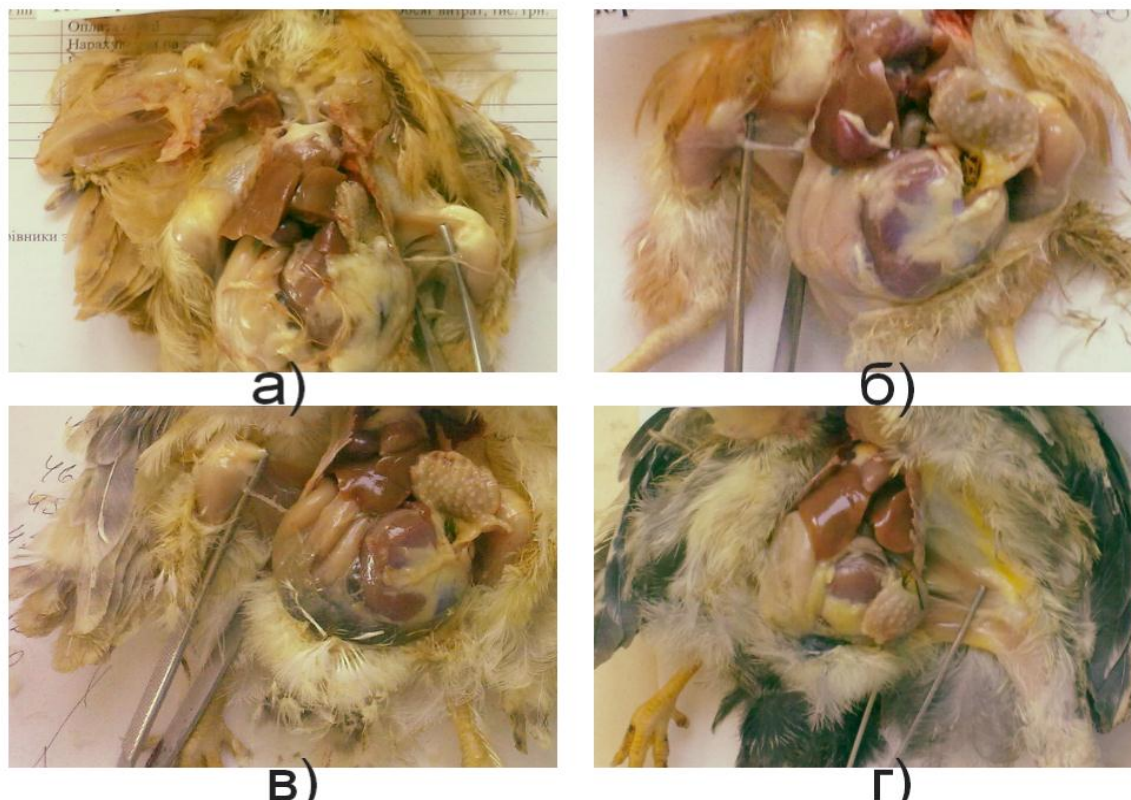
**Таблиця 1 – Нешкідливість дослідних зразків трьохвалентної вакцини з використанням ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11**

Показники	Групи				
	1	2	3	4	5
	Контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 3/11	Контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 4/11	Контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 5/11	Контроль розріджувача	Контроль фізіологічного розвитку
Кількість голів	20	20	20	20	20
Загибло усього	1	2	2	1	0
Патологоанатомічні зміни	0	0	0	0	0

Як видно з даних таблиці у першій групі (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11) – загинуло одне курча. У другій (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 4/11) і третій (контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 5/11) – по два

курчати. У четвертій групі (контроль розріджувача) було відмічено загибель одного курчати. У п'ятій групі (контроль фізіологічного розвитку) загибель курчат не спостерігалася за весь період проведення досліду. Загибель курчат, у всіх групах, спостерігалася у перші дві доби після щеплення дослідними зразками трьохвалентної вакцини, що є неспецифічним відходом і допускається у перші дві доби після щеплення.

При проведенні розтину не було відмічено патологоанатомічних змін у внутрішніх органах у кожній з дослідних груп (рис. 1).



**Рис. 1.** Розтин дослідних курчат: **а)** з групи контроль розріджувача; **б)** з групи контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 3/11; **в)** з групи контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 4/11; **г)** з групи контроль нешкідливості дослідного зразка трьохвалентної вакцини з використанням ізоляту вірусу ХМ 1-го серотипу 5/11.

**Висновки.** Відсутність патологоанатомічних змін у внутрішніх органах у контролі та досліді засвідчує про нешкідливість усіх трьох дослідних зразків трьохвалентної вакцини. Неспецифічний відхід одного-двох курчат допускається в перші дві доби після щеплення.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати досліджень, в яких вивчали нешкідливість трьох дослідних зразків трьохвалентної вакцини з використанням ізолятів вірусу хвороби Марека 1-го серотипу 3/11, 4/11, 5/11 засвідчують про те, що всі варіанти цих дослідних зразків є нешкідливими для організму курчат. Виходячи з цього, будуть проведені дослідження з імуногенності цих зразків та, у подальшому, розроблена полівалентна вірусвакцина проти хвороби Марека.

*Список літератури*

1. Виттер, Р. Л., Оптимальный контроль болезни Марека [Текст] / Р. Л. Виттер // II Междунар. вет. конгр. по птицеводству, (Москва, 21-23 марта 2006 г.). – М. 2006. – С. 66-68.
2. Герілович, А. П. Вірус хвороби Марека [Текст] / А. П. Герілович // Вет. медицина: міжвідом. темат. наук. зб. – Х., 2004. – Вип. 83. – С. 32-38.
3. Дудников, Л. А. Получение моноклональных антител к поверхностным антигенам вируса болезни Марека [Текст] / Л. А. Дудников, В. К. Сологуб, И. А. Коромыслов // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных : материалы Междунар. Науч. Конф., посв. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ», (Владимир, 30-31 окт. 2003 г.). – Владимир, 2003. – С. 271-276.
4. Инфекционные болезни животных [Текст] / Б. Ф. Бессарабов [и др.]; под ред. А. А. Сидорчука. - М. : Колос, 2007. — 671 с.
5. Куляшбекова, Ш. К. Болезнь Марека [Текст] / Ш. К. Куляшбекова, А. В. Борисов, В. В. Орыгин. – Владимир : Транзит-ИКС, 2008. – 214 с.
6. Розробка компонентів реакції дифузної преципітації для діагностики хвороби Марека [Текст] / А. П. Герілович [та ін.] // Вет. мед. : міжвідом. темат. наук. зб. – Х., 2005. – Вип. 85, т. 1. – С. 283-287.
7. Сравнительная эффективность вакцин против болезни Марека [Текст] / Н. Д. Придыбайло [и др.] // Новое в диагностике и профилактике болезней птиц : материалы науч.-практ. Конф., (Ломоносов, 3-4 июня 2008 г.). – Спб. ; Ломоносов, 2008. – С. 64-67.

8. Chapter 2.3.13. Marek's disease [Text] // Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. – 6<sup>th</sup> ed. – OIE, 2008. – P. 566-575.
9. Payne, L. N. Pathogenesis of Marek's disease: recent development [Text] / L.N. Payne // Proc. 19<sup>th</sup> World Poultry Congr. (Amsterdam, Netherlands, 20-24 Sept., 1992.). - Amsterdam, 1992. – P. 189-194.
10. Witter R.L. Marek's disease virus: The characteristics of new strains [Text] / R.L. Witter // Proc. 19<sup>th</sup> World Poultry Congr. (Amsterdam, Netherlands, 20-24 Sept., 1992.). - Amsterdam, 1992. – P. 238-240.
11. Witter R. L. Very virulent Marek's disease viruses: impotence and control [Text] / R. L. Witter // Worlds Poultry. – 1989. – № 5. – P. 45.

### DEFINITION HARMLESSNESS PROTOTYPES TRIVALENT VACCINE AGAINST MAREK'S DISEASE

**Stegniy B.T., Stegnyy M.Y., Sostin D.D., Zaitsev D.S.**

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

*The article presents the results of studies on the harmlessness of the trivalent vaccine prototypes using Marek's disease virus isolates 1st serotype 3/11, 4/11, 5/11, which were tested for day-old chicks.*

*During the experiment, the vaccinated chickens has not been a single case of post-vaccination complications. Clinical monitoring of vaccinated chickens indicate that the experimental vaccine samples harmless use of the drug does not cause adverse effects. Namely, in the experimental chickens do not register and swelling at the injection site abscesses, deterioration of general condition, retarded growth and development. During follow-up, the chickens have not been reported any adverse reactions and physiological deviations from the norms characteristic of this species.*

*The vaccine can be considered harmless, because during the observation period, all test animals survived without any local and symptomatic manifestations caused by the vaccine. Pathological changes characteristic of Marek's disease at autopsy experimental chickens were also not recorded.*

**Keywords:** isolate, Marek's disease virus, control harmless, day-old chicks, vaccine-pathological changes.

УДК 619:616.98:578.828.11:578.74:636.2

### ОСАДЖЕННЯ АНТИГЕНІВ ВІРУСУ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У ДВОФАЗНІЙ СИСТЕМІ ВОДОРозчинНИХ ПОЛІМЕРІВ

**Шаповалова О.В., Горбатенко С.К., Кузнецова О.В., М'ягих Н.В.**

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

*Метод осадження у двофазній системі водорозчинних полімерів (0,2 % декстрану та 7,0 % ПЕГ) дозволяє отримати культуральні антигени ВЛВРХ, які за вмістом загального білку та специфічною активністю в РІД у 1,52–2,48 рази перевищують контрольні антигени, отримані традиційним способом.*

**Ключові слова:** вірус лейкозу ВРХ, антиген, осадження, метод, РІД

Загальновідомо, що ефективність серологічного методу діагностики інфекційних захворювань залежить від рівня специфічності засобу, що використовується. Досягнення високого рівня ефективності серологічних методів діагностики лейкозу може бути забезпечене лише при застосуванні високоспецифічних антигенів ВЛКРС. Антигени ВЛВРХ, які використовують з діагностичною метою, продукуються лініями клітин, хронічно інфікованими збудником лейкозу FLK-BLV чи PO714 (культуральною антиген), або клонами мікроорганізмів, у геном яких інтегровані відповідні фрагменти вірусу лейкозу (рекомбінантний антиген).

Кількісні та якісні показники культуральних глікопротеїдних антигенів ВЛВРХ залежать від багатьох технологічних чинників, найважливішими серед яких є методи виділення.

Існують методи виділення та фракціонування макромолекулярних сполук та вірусів з використанням водних розчинів полімерів [1]. Застосування рідких двофазних систем полімерів було апробовано для виділення таких ретровірусів та їх антигенів, як HIV, SIV, FeLV [2, 3, 4]. Також доведено придатність даної методики для концентрування та очищення ВЛВРХ [5, 6]. Це є особливо актуальним для напрацювання антигену ВЛВРХ з метою його використання в реакціях ІФА.

Крім того, у попередніх досліджах більш активні культуральні антигени нами було отримано на клітинах FLK-BLV з використанням поживних середовищ, модифікованих додаванням активних форм кисню (перекису водню) [7].

**Метою** наших досліджень було відпрацювання методу отримання культуральних антигенів ВЛВРХ на середовищах модифікованого складу з застосуванням методу очищення за допомогою двофазних систем полімерів.

**Матеріали та методи.** Використовували перещеплювану лінію клітин нирки ембріону вівці, хронічно інфіковану ВЛВРХ (FLK-BLV). Клітини FLK-BLV вирощували за загальноновживаними методиками