

**Заключение.** На основании проведенных исследований было установлено, что в процессе лечения исследуемых животных новым отечественным комплексным препаратом «Ниокситил форте» отсутствует негативное влияние препарата на биохимические показатели организма животных, а также доказана его терапевтическая эффективность при лечении коров, больных послеродовым эндометритом.

**Литература.** 1. Джамалутдинов, Ш. А. Изменение иммуноморфологических показателей крови при послеродовом катарально-гнойном эндометрите у коров / Ш. А. Джамалутдинов, М. Г. Халипаев, А. А. Алиев, И. С. Коба // Труды Кубанского государственного университета. Серия: ветеринарные науки № 1 (ч. 2), 2009. – С. 169-170. 2. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : пособие для врачей / М. Д. Машковский. – Москва : Новая волна, 2008. – 1206 с. 3. Методические указания по биохимическому исследованию крови животных с использованием диагностических наборов : утв. ГУВ МСХиП РФ 27.11.2007 г. / И. Н. Дубина [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 60 с. 4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под. ред. проф. И. П. Кондрахина. – Москва: КолосС, 2004. – 520 с. 5. Терапевтическая и профилактическая эффективность препарата «Ниокситил форте» при послеродовых эндометритах у коров / А. В. Соловьев, В. В. Петров // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2014. - Т.50, вып. 1, ч. 1. – С. 148-150. 6. Соловьев, А. В. Обоснование состава и стандартизация комплексного противозендометритного препарата «Ниокситил форте» / А. В. Соловьев, В. В. Петров // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии : материалы V Международного съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов, Витебск, 26-30 мая 2015 г.. - Витебск : ВГАВМ, 2015. - С. 361-365.

Статья передана в печать 20.10.2016 г.

УДК 619:616.98:578.825.1:615.371:636.5

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ И ИММУНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ МАРЕКА

Стегний Б.Т., Стегний М.Ю., Состин Д.Д.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, Украина

*В статье представлены результаты исследований по определению безвредности и иммуногенной активности опытных образцов поливалентной вакцины, которые были проверены на цыплятах.*

*Исследования показали безвредность культуральной вакцины – все подопытные цыплята остались живы без каких-либо местных и симптоматических проявлений, вызванных вакциной в течение всего срока наблюдения (40 суток). Патологоанатомические изменения, характерные для болезни Марека, во время вскрытия подопытных цыплят не были зафиксированы.*

*Иммуногенная активность опытных образцов поливалентной вакцины оказалась в целом на уровне 88,9%, что требует увеличения иммунизирующей дозы в опытных образцах вакцины.*

*The article presents the results of studies to determine the safety and immunogenicity of the vaccine polyvalent prototypes that have been tested on chickens.*

*Studies have shown the harmlessness of the culture of the vaccine - all experimental chickens were alive without any local and symptomatic manifestations caused by the vaccine during the entire observation period (40 days). Pathological changes characteristic of Marek's disease, were recorded during the dissection of the experimental chickens.*

*The immunogenic activity of a polyvalent vaccine prototypes was generally at a level (88.9%), which requires an increase in the immunizing dose of the experimental vaccine samples.*

**Ключевые слова:** вирус болезни Марека, безвредность, иммуногенная активность, поливалентная вакцина.

**Keywords:** Marek's disease virus, safety, immunogenic activity, multivalent vaccine against.

**Введение.** Болезнь Марека (лат. – *Morbus Marec*; англ. – *Marek's Disease*; нейролимфатоз птиц, паралич птиц, инфекционный нейролимфатоз птиц, энзоотический нейроэнцефаломиелит птиц, БМ) – высококонтагиозная вирусная болезнь кур и индеек, которая проявляется в двух формах: классической (поражение периферической и центральной нервной систем) и острой (признаки заболевания и внезапная массовая гибель птицы) [1, 2, 3]. В отсутствие вакцинопрофилактики болезнь Марека наносила значительный экономический ущерб птицеводству, который проявлялся гибелью и вынужденным убоем птицы, снижением ее продуктивности и качества продукции.

Наиболее чувствительны к естественному заражению цыплята в возрасте 1-14-суточного возраста. Инфицирование всего поголовья может наступить до 8-недельного возраста.

Возрастную устойчивость птицы связывают со способностью формирования клеточного иммунитета. Наиболее отчетливо болезнь проявляется у кур в возрасте от 60 до 120 дней [4].

Впервые болезнь была описана в 1907 г. венгерским профессором Ж. Марекком как полиневрит. В последующие годы болезнь была зарегистрирована в разных странах под другими названиями (нейролимфатоз, паралич птиц, неврит, инфекционный нейрогрануломатоз, лейкоз курей т.д.). Сейчас доказано, что болезнь Марека и лимфоидный лейкоз различаются и с точки зрения патологии, и в этиологическом отношении. После того, как в 1967 г. Черчиллем и Бигсом было доказано, что возбудителем болезни Марека является клеточно-связанный герпесвирус В, было окончательно принято решение о распределении лейкозного комплекса на лейкоз и болезнь Марека [5, 6].

В настоящее время болезнь Марека приобретает широкое распространение в птицеводческих хозяйствах Украины [7]. Только по данным литературы в период с 2011 по 2013 год при оценке эпизоотической ситуации вируса болезни Марека (ВБМ) на территории Украины учеными было установлено наличие заболевания в птицеводческих хозяйствах Киевской, Черкасской, Хмельницкой, Полтавской, Днепропетровской, Кировоградской, Запорожской, Николаевской, Донецкой, Винницкой, Волынской, Ивано-Франковской, Житомирской, Ровенской, Закарпатской областей Украины и АР Крым [8, 9].

Лабораторией биотехнологии ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» при проведении мониторинговых исследований распространения болезни Марека на территории Украины было выделено 7 изолятов 1-го серотипа ВБМ в период с 2011 по 2012 год и 5 изолятов 1-го серотипа за 2014-2015 годы. Случаи заболевания были зафиксированы в Киевской, Харьковской, Одесской, Кировоградской, Черкасской и Винницкой областях Украины. В то же время установление распространения болезни Марека во всех птицеводческих хозяйствах Украины достаточно проблематично, в связи с отсутствием обязательной отчетности всех случаев заболевания в хозяйствах [9].

На сегодняшний день во многих странах мира отмечено снижение защитных свойств применяемых вакцин. Объяснением этому является низкая иммуногенность вакцинного штамма герпесвируса индекса, применение вакцин на фоне материнского иммунитета у цыплят, а также появление высоковирулентных патотипов возбудителя болезни Марека [7]. Решить проблему возможно созданием вакцин на основе местных штаммов, циркулирующих на территории Украины.

Целью исследований было определить безвредность и иммуногенность разработанной в лаборатории биотехнологии культуральной поливалентной вакцины из местных штаммов.

**Материалы и методы исследований.** Был проведен опыт по определению безвредности и иммуногенной активности опытных образцов поливалентной вакцины против БМ. С этой целью было изготовлено три опытных образца поливалентной вакцины на основе двух производственных штаммов: вируса герпеса кур (ВГК) второго серотипа, вируса герпеса индекса (ВГИ) третьего серотипа и одного из трех аттенуированных, ареверсидельных изолятов вируса болезни Марека 1-го серотипа (3/11, 4/11, 5/11) соответственно. Данные изоляты были выделены из патологического материала, адаптированы к клеткам фибробластов эмбрионов кур (ФЭК) и аттенуированы на первичной и перевиваемой культурах клеток. Аттенуированные изоляты ВБМ 1-го серотипа были проверены на реверсию вирулентности и являются ареверсидельными. Все манипуляции на подопытных группах цыплят были проведены с соблюдением международных правил биоэтики.

Безвредность опытных образцов поливалентной вакцины с использованием аттенуированных, ареверсидельных изолятов вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11, 4/11, 5/11 была проверена биопробой на цыплятах. С этой целью было сформировано 5 групп суточных цыплят по 20 голов в каждой. Первая группа – контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11. Вторая группа – контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 4/11. Третья группа – контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11. Четвертая группа – контроль разбавителя. Пятая группа – контроль физиологического развития. Опытные образцы вакцины были введены внутримышечно соответствующим группам цыплят в объеме по 0,2 см<sup>3</sup>/гол в десятикратной прививочной дозе. Четвертой группе был введен разбавитель внутримышечно в объеме 0,2 см<sup>3</sup>/гол. С пятой группой никаких манипуляций не проводили.

За цыплятами осуществлялся надзор в течение 40 суток. Результаты опыта учитывались по сохранности, физиологическому развитию подопытных цыплят и патологоанатомическим поражениям органов, которые были изучены на вскрытии.

С целью проверки иммуногенной активности опытных образцов поливалентной вакцины против болезни Марека было сформировано шесть групп суточных цыплят по 20 голов в каждой. Первая группа – контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11. Вторая группа – контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 4/11. Третья группа – контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсидельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11. Четвертая группа – контроль физиологического развития. Пятая группа – контроль патогенности контрольного штамма ВБМ первого серотипа JM. Шестая группа - контроль разбавителя.

Опытные образцы вакцины были введены внутримышечно соответствующим группам цыплят в однократной прививной дозе в объеме 0,2 см<sup>3</sup>/гол. Шестой группе был введен разбавитель внутримышечно в объеме 0,2 см<sup>3</sup>/гол. С четвертой и пятой группами никаких манипуляций не проводили.

С целью изучения протективных свойств иммунитета через 21 день после введения опытных образцов поливалентной вакцины первой, второй, третьей и пятой подопытным группам цыплят был введен штамм-пробойник JM ВМ первого серотипа внутрибрюшинно в объеме по 0,2 см<sup>3</sup>/гол.

За подопытными группами цыплят велось наблюдение в течение 128 суток после заражения контрольным штаммом-пробойником JM. Результаты опыта учитывались по сохранности, физиологическому развитию подопытных цыплят и патологоанатомическим поражениям органов, которые были изучены на вскрытии.

**Результаты исследований.** Безвредность опытных образцов вакцины проверялась на протяжении 40 суток. При наблюдении не было отмечено клинических признаков болезни Марека как ни классической, так ни острой форм. Отсутствовали невральная (характеризуется шаткой походкой, хромотой, парезами и параличами ног и крыльев) и окулярная (характеризуется серым цветом радужной оболочки глаз, зрачок неправильной формы, иногда суженный до едва заметной точки, что приводит к слепоте) формы. Цыплята были клинически здоровы.

При выборочном вскрытии в конце эксперимента через 40 суток наблюдения ни в одной из опытных и контрольных групп не были обнаружены патологоанатомические изменения, характерные для болезни Марека (рисунок 1, 2, 3, 4, 5).

Только на вторые сутки после вакцинации отмечалась неспецифическая гибель цыплят в группах:

- в первой группе (контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11) – погиб 1 цыпленок;
- во второй группе (контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 4/11) – погибло 2 цыпленка;
- в третьей группе (контроль безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11) – погибло 2 цыпленка;
- в четвертой группе (контроль разбавителя) – погиб 1 цыпленок;
- в пятой группе (контроль физиологического развития) – гибель цыплят не отмечалась.

Неспецифический отход допускается в первые 10 суток жизни цыплят. В течение последующего наблюдения не было зафиксировано гибели и случаев поствакцинальных осложнений. А именно, у подопытных цыплят не регистрировали отеки и абсцессы в месте введения препарата, ухудшения общего состояния, отставания в росте и развитии.



**Рисунок 1 – Вскрытие цыплят: отсутствие патологоанатомических изменений в группе физиологического развития**



**Рисунок 2 – Вскрытие цыплят: отсутствие патологоанатомических изменений в группе контроля разбавителя**



**Рисунок 3 – Вскрытие цыплят: отсутствие патологоанатомических изменений в группе безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса 1-го серотипа 3/11**



**Рисунок 4 – Вскрытие цыплят: отсутствие патологоанатомических изменений в группе контроля безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса 1-го серотипа 4/11**



**Рисунок 5 – Вскрытие цыплят: отсутствие патологоанатомических изменений в группе контроля безвредности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса 1-го серотипа 5/11**

Учет результатов опыта на иммуногенную активность опытных образцов вакцины был проведен через 128 суток после заражения контрольным штаммом-пробойником JM. При этом было отмечено:

- в первой группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11) – выжило 18 цыплят;
- во второй группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 4/11) – выжило 18 цыплят;
- в третьей группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11) – выжило 15 цыплят;
- в четвертой группе (контроль физиологического развития) – выжило 18 цыплят;
- в пятой группе (контроль патогенности контрольного штамма ВБМ первого серотипа JM) – выжило 7 цыплят;
- в шестой группе (контроль разбавителя) – выжило 18 цыплят.

После завершения наблюдений из каждой группы было забито несколько голов цыплят с целью определения наличия или отсутствия патологоанатомических изменений во внутренних органах. У трех из оставшихся в живых семи цыплят пятой группы (контроль патогенности контрольного штамма ВБМ первого серотипа JM) наблюдали парез ног и общее угнетение (рисунок 6). Они значительно отставали в росте и физиологическом развитии от контрольной и опытных групп с явными признаками парезов и паралича шеи и конечностей. На вскрытии цыплят этой группы были отмечены такие патологоанатомические изменения во внутренних органах, как утолщение бедренного и седалищного нервов, наличие на сердце точечных саловидных новообразований (рисунок 7).

У двух цыплят первой группы (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсибельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 3/11) наблюдали такие признаки болезни Марека, как парезы и параличи ног. При вскрытии были отмечены разрастания саловидных новообразований на сердце и утолщение седалищного нерва.



**Рисунок 6 – Парез ног и общее угнетение цыплят группы контроля патогенности контрольного штамма ВБМ первого серотипа JM**



**Рисунок 7 – Вскрытие цыплят: саловидные новообразования на сердце у цыплят группы контроля патогенности контрольного штамма ВБМ первого серотипа JM**

Во второй группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, ареверсибельного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 4/11) из восемнадцати цыплят у двух наблюдали хромоту и паралич ног. У остальных

патологических изменений, характерных для болезни Марека, не наблюдали.

В третьей группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, аверсифильного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11) погибло пять цыплят, из них два цыпленка в первые двое суток и три в процессе опыта (от переохлаждения). Клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для болезни Марека, не наблюдали ни у одной головы.

В четвертой (контроль физиологического развития) и шестой (контроль разбавителя) группах признаков болезни Марека не наблюдали ни у одной головы.

Таким образом, безвредность всех трех опытных образцов поливалентной вакцины для односуточных цыплят даже в десятикратной прививной дозе составляла 100%. Иммуногенная активность опытных образцов была на уровне 88,9%, что требует увеличения иммунизирующей дозы в опытных образцах вакцины.

**Заключение.** Отсутствие патологоанатомических изменений во внутренних органах в контроле и опыте свидетельствует о безвредности всех трех опытных образцов поливалентной вакцины. Неспецифический отход одного-двух цыплят допускается в первые десять суток жизни цыплят.

Отсутствие клинических проявлений болезни Марека, физиологическое развитие в пределах нормы у подопытных цыплят третьей группы и отсутствие патологоанатомических изменений во внутренних органах, характерных для болезни Марека, в контроле и опыте свидетельствует о том, что третий опытный образец поливалентной вакцины обладает достаточными иммуногенными свойствами. Неспецифический отход одного-двух цыплят допускается в первые десять суток жизни цыплят. Гибель еще трех цыплят, погибших в ходе дальнейших исследований, можно считать неспецифическим отходом, потому что она наступила в результате переохлаждения.

Таким образом, иммуногенная активность опытных образцов поливалентной вакцины оказалась в целом на уровне 88,9%, что требует увеличения иммунизирующей дозы в опытных образцах вакцины.

**Литература.** 1. Бойко, В. С. Вплив вірусу хвороби Марека на обмін азотовмісних речовин у сироватці крові вакцинованої та невакцинованої птиці [Текст] / В. С. Бойко // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2010. — Вип. 93. — С. 64–68. 2. Жейнова, Н. М. Принципи специфічної профілактики хвороби Марека та бактеріальних хвороб різної етіології [Текст] / Н. М. Жейнова // *Вет. медицина України.* — 2014. — № 5. — С. 13–14. 3. Occurrence of Marek's disease in vaccinated poultry flocks of Haryana (India) [Text] / P. C. Kamaldeep [et al.] // *Int. J. Poultry Sci.* — 2007. — Vol. 6, № 5. — P. 372–377. 4. Marek's disease: Anevolving problem / F. Davidson, V. Nair (eds.). — London: ElsevierAcad. Press, 2004. — 212 pp. 5. Стегній, М. Ю. Біотехнологічні аспекти кріоконсервування та зберігання виробничих штамів та атенуованих ізолятів вірусу хвороби Марека [Текст] / М. Ю. Стегній // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2013. — Вип. 97. — С. 552–555. 6. Лукина, В. А. Современное состояние и перспективы вакцинопрофилактики болезни Марека [Текст] / В. А. Лукина, Б. В. Соловьев, Н. Н. Быков // *Науч. основы пр-ва вет. биол. препаратов : тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. (Щелково, 8–9 июня 2000 г.).* — Щелково, 2000. — С. 6–8. 7. Проблеми боротьби з хворобою Марека в Україні [Текст] / Б. Т. Стегній [та ін.] // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2002. — Вип. 80. — С. 669–670. 8. Бережна, Д. С. Оцінка епізоотичної ситуації вірусу хвороби Марека на території України [Текст] / Д. С. Бережна, О. А. Іващенко, В. П. Поліщук // *Мікробіологія і біотехнологія.* — К., 2015. — № 1. — С. 14–20. 9. Стегній, Б. Т. Аналіз поширення хвороби Марека в Україні та світі [Текст] / Б. Т. Стегній, М. Ю. Стегній, Д. Д. Состін // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2016. — Вип. 102. — С. 186–190.

Статья передана в печать 21.09.2016 г.

УДК 576.535:576.38:[546.57+546.47+546.72]-022.532

### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОГО РЕЖИМА ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК FLK-71 И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ И НАНОСОЕДИНЕНИЙ (AG, ZN, FE)

Стегний М.Ю., Магац Д.Ю.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, Украина

*Исследованы показатели митотической активности и процент патологических форм митозов под действием наночастиц железа в разведении 1:20, которые были достоверно ниже контроля: в первые сутки митотическая активность была почти на 60% меньше, а через 96 ч. — уже на 80% по сравнению с митотической активностью клеток контроля. В то же время наносоединения железа снижали количество конгломератов и улучшали морфологическое состояние клеток по сравнению с контролем. Подобную картину наблюдали в вариантах культивирования с наночастицами и наносоединениями серебра во*