

Заключение.

1. С использованием гетерологической системы культивирования – первично-трипсинизированной культуры фибробластов эмбрионов кур изолирован вирус деформации крыла из тканей медоносной пчелы.

2. ЦПД вируса в культуре ФЭК проявлялось в виде округления клеток и появления в их цитоплазме мелкой зернистости, образовании «стерильных» участков клеток и очагов отслоения клеток, изменением цвета питательной среды в цвет жжёного сахара.

3. Выделенный штамм ВДК может быть использован как стандарт для положительного контроля, с возможностью контроля вирусной нагрузки у пчёл на пчелопасеках, в продуктах и материалах пчеловодства, а также при разработке средств лечения и профилактики болезни деформации крыла у пчёл.

Литература

1. De Miranda, J. R. Deformed wing virus / J. R. de Miranda, E. Genersch // *Journal of Invertebrate Pathology*. – 2010. – Vol. 103. – P. 48–61.

2. Lanzi, G. Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.) / G. Lanzi [et al.] // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80, № 10. – P. 4998 – 5009.

3. Localization of deformed wing virus (DWV) in the brains of the honeybee, *Apis mellifera* Linnaeus / K. S. Shah [et al.] // *Virology Journal*. – 2009. – P. 6–182.

4. Nielsen, S. L. Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark / S. L. Nielsen, M. Nicolaisen, P. Kryger // *Apidologie*. – 2008. – Vol. 39. – P. 310–314.

5. Standard methods for virus research in *Apis mellifera* / de Miranda [et. al.] // *Journal of Apicultural Research*. – 2013. – Vol. 52, № 4. – 57 p.

6. Tentcheva, D. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructormite* populations in France / D. Tentcheva [et. al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 70, № 12. – P. 7185–7191.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ УРОВНЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ АНТИТЕЛ В ЖЕЛТКАХ КУР, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ВАКЦИНОЙ «ТЕТРАВИР - 4» И «ЭНТЕРОВАК -5 »

ШАПУЛАТОВА З.Ж.

Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологий, г. Самарканд, Республика Узбекистан

В статье приведены результаты научных исследований по разработке ветеринарного препарата на основе трансовариальных иммуноглобулинов для специфической профилактики и лечения вирусных респираторных, вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят. Приведены результаты определения антител к вирусам – возбудителям пневмоэнтеритов телят в яичных иммуноглобулинах от кур, иммунизированных вакциной «Тетравир - 4» и «Энтеровак -5».

Ключевые слова: вирус, телята, куры, желток, РНГА, иммуноглобулин, антитела, трансовариальный, желток, пневмоэнтериты.

RESULTS OF STUDYING THE LEVEL OF ANTI-VIRAL ANTIBODIES IN THE YOLKS OF CHICKS IMMUNIZED WITH THE VACCINE “TETRAVIR-4” AND “ENTEROVAC-5”

SHAPULATOVA Z. J.

Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology, Samarkand, Republic of Uzbekistan

The article presents the results of scientific research on the development of a veterinary drug based on transovarial immunoglobulins for the specific prevention and treatment of viral respiratory, viral-bacterial gastrointestinal infections of calves. The results of the determination of antibodies to viruses that cause pneumoenteritis in calves in egg immunoglobulins from chickens immunized with the Tetravir - 4 and Enterovak -5 vaccines are presented.

Keywords: virus, calves, chickens, yolk, RNHA, immunoglobulin, antibodies, transovarian, yolk, pneumoenteritis.

Введение. В числе заболеваний телят значительное место занимают инфекционные желудочно-кишечные болезни раннего возраста, имеющие широкое распространение в ряде хозяйств Узбекистана и наносят хозяйствам большой экономический ущерб, снижают доходы животноводства.

Успешная борьба с этими заболеваниями возможна только при наличии надежных средств специфической терапии и профилактики. Особенно заслуживает внимания разработка способа лечения и профилактики энтеритов телят вирусно-бактериальной этиологии с использованием иммуноглобулинов, выделяемые из желтка вакцинированных кур - IgY (yolk immunoglobulin). Анализ литературы показывает что для специфической терапии вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят вирусно-бактериальной этиологии можно использовать препараты на основе трансовариальных иммуноглобулинов [1,2,3,4].

На современном этапе наиболее перспективным и эффективным признано конструирование препаратов на основе трансовариальных иммуноглобулинов [5,7,8].

Пероральная передача антител является наиболее подходящим вариантом для лечения инфекций, поражающих желудочно-кишечный тракт человека и животных. Иммуитет, полученный при пассивной иммунизации, сохраняется в течение короткого периода времени, пока антитела остаются в организме, но он обеспечивает мгновенную защиту и ценен при острых заболеваниях. Пассивная иммунизация становится всё более и более востребованной альтернативой антибиотикам, когда микроорганизмы становятся нечувствительными к ним. Экономически выгоднее выпускать унифицированные препараты на основе IgY-антител с различной специфичностью, чем множество разнообразных препаратов, выпускаемых по различным технологиям. Имеется много публикаций об использовании птичьих антител для пассивной иммунизации в качестве лечебных и профилактических препаратов для людей и животных [10,11].

Много сведений приведено в литературе зарубежных и отечественных авторов о применении препаратов на основе трансовариальных иммуноглобулинов в ветеринарной практике [1,2,6,9].

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводство и биотехнологий, кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ, отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных.

Для получения трансовариальных иммуноглобулинов иммуноглобулинов было использовано 2 группы кур-несушек по 25 голов -1 опытная и 1 контрольная. Кур гипериммунизировали ассоциированной инактивированной вакциной против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции, колибактериоза и протеоза телят «Энтеровак – 5» и ассоциированной; живой вакциной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота «Тетравир - 4» по разработанной нами схеме внутримышечно в дозе 2,0 мл (введение вакцин одновременно в разные места).

Курам контрольной группы по этой же схеме вводили физиологический раствор внутримышечно в дозе 2,0 мл одновременно в разные места.

Яйца от опытных кур-несушек, полученные после 14 дней по завершении инъекций, собирались и хранились при температуре +3...+5°C.

Для определения уровня противовирусных антител в желтках иммунизированных кур использовали реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА). Для исследования использовали яйца кур до иммунизации, через 14, 28 и 42 дня. Для отделения иммуноглобулинов от липидов желтка желток разводили в соотношении 1:1 стерильным изотоническим раствором натрия хлорида и добавляли в него очищенный авиационный бензин, тщательно ресуспендировали и помещали при +2+5°C на 3-5 суток. Далее отстоявшийся иммуноглобулин декантировали и использовали для постановки иммунологических реакций (РНГА).

Результаты исследований. В результате проведенных исследований впервые в Узбекистане из яиц, полученных от гипериммунизированных противовирусными и вирусно-бактериальными вакцинами кур-несушек по отработанной схеме разработан и внедрен в производство ветеринарный препарат «Энтероавиглоб-2» на основе трансвариальных иммуноглобулинов для специфической профилактики и лечения вирусных респираторных, вирусно-бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят.

Результаты изучения уровня противовирусных антител в желтках иммунизированных кур приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты определения антител к вирусам – возбудителям пневмоэнтеритов телят в яичных иммуноглобулинах от кур, иммунизированных вакциной «Тетравир - 4» и «Энтеровак -5 »

Вирус	Реакция	Титра антител в зависимости от срока взятия яиц (\log_2)			
		До иммунизации	Через 14 дней	Через 28 дней	Через 42 дня
Инфекционного ринотрахеита	РНГА	4,0 \pm 0,32	6,0 \pm 0,72	9,0 \pm 0,52	12,0 \pm 0,72
Диареи	РНГА	4,0 \pm 0,28	5,8 \pm 0,54	8,8 \pm 0,36	10,0 \pm 0,54
Парагриппа-3	РНГА	3,0 \pm 0,52	5,6 \pm 0,42	9,0 \pm 0,32	11,0 \pm 0,42
РС-вирус	РНГА	3,0 \pm 0,36	5,4 \pm 0,58	8,0 \pm 0,28	12,0 \pm 0,58
Ротавирус	РНГА	4,0 \pm 0,32	5,2 \pm 0,42	8,8 \pm 0,32	12,0 \pm 0,42
Коронавирус	РНГА	3,0 \pm 0,26	5,6 \pm 0,32	7,8 \pm 0,26	11,0 \pm 0,32
E. coli K88	РА	3,4 \pm 0,2	4,4 \pm 0,2	8,4 \pm 0,4	9,4 \pm 0,8
E. coli K99	РА	3,8 \pm 0,12	6,2 \pm 0,3	8,2 \pm 0,7	9,0 \pm 0,6
E. coli 987P	РА	3,8 \pm 0,12	5,2 \pm 0,2	7,6 \pm 0,5	9,6 \pm 0,9
E. coli F41, A20	РА	3,2 \pm 0,4	4,8 \pm 0,3	7,8 \pm 0,23	8,8 \pm 0,8
Pr. mirabilis	РА	3,6 \pm 0,1	6,6 \pm 0,26	7,8 \pm 0,39	9,2 \pm 0,44

Приведенные в таблицах результаты свидетельствуют о существенном биосинтезе противовирусных и антибактериальных антител в желтках иммунизированных вакцинами «Тетравир - 4» и «Энтеровак-5» кур. Уровень антител в желтках кур, иммунизированных вакцинами «Тетравир» и «Энтеровак – 5» по схеме 2 возрос к вирусу инфекционного ринотрахеита к 42 дню по сравнению с исходными данными с 1 до 12 \log_2 , диареи с 1 до 10 \log_2 , парагриппа- 3 с 2 до 11 \log_2 , РС-вирусу с 1 до 12 \log_2 , ротавирусу с 2 до 12 \log_2 , коронавирусу с 1 до 11 \log_2 , E. coli K88 с 1 до 11 \log_2 , E. coli K99 с 2 до 10 \log_2 , E. coli 987P с 2 до 11 \log_2 , E. coli F41, A20 с 2 до 10 \log_2 , Pr. mirabilis с 2 до 11 \log_2 .

В желтках кур контрольной группы титр антител возрос незначительно – в среднем с 1 до 4 \log_2

Полученные таким образом яичные иммуноглобулины имеют достаточной высокий уровень антител, позволяющий при пероральном введении телятам нейтрализовать вирусы и бактерии, находящиеся в кишечнике и оказывать существенный лечебный эффект.

Полученные результаты свидетельствуют, что у кур, иммунизированных совместно вакцинами Энтеровак-5 и Тетравир-4 отмечен высокий уровень антител. Проверка уровня антител у контрольных (неиммунизированных) кур показала, что титр антител был на уровне 3-4 \log_2 , что указывает на высокий уровень нормальных антител в желтках.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что разработанная технология изготовления препарата ветеринарного на основе трансвариальных иммуноглобулинов, полученных из яиц кур, гипериммунизированных ассоциированной инактивированной вакциной против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции, колибактериоза и протеоза телят «Энтеровак – 5» и ассоциированной; живой вакциной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота «Тетравир - 4» позволяет получить высокий уровень антител в желтках кур в РНГА.

На основе вышеизложенного, установлено, что трансвариальные иммуноглобулины являются высокоактивным и рентабельным источником антител против вирусных и бактериальных инфекций для животных, позволяющий получать эффективные лекарственные средства для пассивной профилактики и терапии больных пневмоэнтеритами животных.

Литература

1. Получение трансвариальных иммуноглобулинов при создании новых ветеринарных биопрепаратов / Борисовец Д.С., Зуйкевич Т.А., Згировская А.А., Красочко П.А., Осипенко А.Е. // *Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария*. 2021;(2):31-39.
2. Использование трансвариальных иммуноглобулинов в профилактике вирусно-бактериальных энтеритов телят / Красочко П.А., Понаськов М.А., Шапулатова З.Ж., Борисовец Д.С., Зуйкевич Т.А., Сойкина О.С. // *В сборнике: Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов. Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых. Лосино-Петровский, 2022. С. 162-169.*
3. В.С. Каплин, *Возможности использования антител из желтков яиц в контексте продовольственной безопасности российской федерации Достижения ветеринарной науки и практики «Инновации и продовольственная безопасность» № 4(34)/2021; с.25-34.*
4. Шапулатова З. Ж., Юнусов Х. Б., Красочко П. А. *Разработка средств и способов диагностики, специфической профилактики заболеваний органов дыхания и пищеварения вирусно-бактериальной этиологии в хозяйствах Республики Узбекистан //Agrobiotexnologiya va veterinariya tibbiyoti ilmiy jurnali. – 2022. – с. 470-475.*
5. Шапулатова, З. Ж., Красочко, П. А., & Эшкувватаров, Р. Н. (2023). *Эпизоотология инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, усовершенствование мер профилактики и диагностики.*
6. Shapulatova Z. J. et al. *Buzoqlarda Rotavirusli Infeksiya //Agrobiotexnologiya va veterinariya tibbiyoti ilmiy jurnali. – 2022. – С. 387-390.*
7. *Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review. / E.P.V. Pereira[et al.] // International Immunopharmacology. 2019. –№ 79. – P.293-303.*
8. Haak-Frendscho M. *Why IgY Chicken polyclonal antibody, an appealing alternative. Haak-Frendscho M. // Promega Notes Magazine.– 1994. – № 46. – P. 11-14.*
9. Юнусов Х. Б., Красочко П. А., Шапулатова З. Ж. *Биохимические показатели сыворотки крови у стельных коров, вакцинированных ассоциированной инактивированной вакциной против вирусной диареи, рота-и коронавирусной инфекции, колибактериоза и протеоза телят" Энтеровак-5". – 2023.*
10. Shapulatova, Z., Yunusov, H. B., Eshkuvvatov, R. N., Ruzikulova, U. H., & Ergashev, N. N. (2023). *Prevalence of the Viral Infections Among Calves in Livestock Farms Located in the Samarkand Region of Uzbekistan. INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL ENGINEERING AND AGRICULTURE, 2(6), 67-73.*
11. Шапулатова, З. Ж., Эргашев, Н. Н., & Рузикулова, У. Х. *Ассоциативные инфекции телят, вызванные рота-, коронавирусами и вирусом диареи в хозяйствах республики Узбекистан. UХeXc [Sc [re [TT [ÿe [US jacUSj [N] Tq^ XeX, 78.*