

крови методом Хагедорна- Иенсена / Ш. Ш. Шамахмудов // Лабораторное дело. - Москва. – 1966. - № 1. - С. 16-17. 4. Асатиани, В. С. Методы биохимических исследований / В. С. Асатиани. – Москва : Медицина, 1956. - С. 211-212. 5. Модель, Л. М. Биология туберкулезных микобактерий и иммунология туберкулеза / Л. М. Модель. – Москва : Медицина, 1958. - 191 с. 6. ГОСТ 32306-2013. Туберкулины очищенные (ППД) для животных. Технические условия. – Москва : Стандартинформ, 2013. -16 с.

УДК 619:578. 831.3

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЖИВОЙ И ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА УТЯТ ТИПА I

Никитина Н.В., Трубицын М.М.

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП», Санкт-Петербург, г. Ломоносов, Российская Федерация

*В борьбе с вирусным гепатитом утят типа I важная роль отведена специфической профилактике. В статье приведены результаты по изучению сравнительной оценки антигенности живой и инактивированной вакцин против этой болезни. Показано, что инактивированная эмульгированная вакцина обладает выраженной антигенной активностью и индуцирует у однократно привитых уток образование высокого уровня специфических антител к вирусу гепатита утят типа I. Вакцина может быть широко использована для специфической профилактики болезни в стационарно неблагополучных хозяйствах. **Ключевые слова:** антиген, антитела, вакцина, вирусный гепатит утят типа I.*

COMPARATIVE ASSESSMENT OF ANTIGENIC ACTIVITY OF LIVE AND INACTIVATED VACCINE AGAINST DUCKLINGS TYPE I VIRAL HEPATITIS

Nikitina N.V, Trubitsyn M.M.

*All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science - Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center «All-Russian Research and Technological Poultry Institute», St. Petersburg - Lomonosov, Russian Federation

Specific prevention havean important role in the control of duck viral hepatitis type I. The article presents the results of a comparative evaluation of the antigenicity of live and inactivated vaccines against this disease. There was shown that the inactivated emulsified vaccine has a pronounced antigenic activity and induces the formation of a high level of specific antibodies to its causative agent. The vaccine can be widely used for specific disease prevention in permanently affected farms. **Keywords:** antigen, antibodies, vaccine, duck viral hepatitis type I.

Введение. Вирусный гепатит утят типа I (ВГУ I) занимает одно из первых мест среди вирусных инфекций этого вида птицы по распространению, заболеваемости и летальности. ВГУ I – высококонтагиозная, остропротекающая болезнь, поражающая утят до 6 - недельного возраста. Для нее характерны некродистрофические и воспалительные процессы, протекающие преимущественно в печени, геморрагический диатез и высокая летальность (до 95 %) [6, 8]. Санитарным кодексом МЭБ (2008) ВГУ I включен в перечень особо опасных болезней [11].

В комплексе мероприятий по предупреждению и ликвидации ВГУ I важная роль отведена специфической профилактике, направленной на создание напряженного иммунитета у молодняка до 6-недельного возраста. Для борьбы с ВГУ I в РФ разработана эмбриональная вирусвакцина на основе штамма "ВГНКИ-К", адаптированного к утиным эмбрионам [3, 5]. Препаратом иммунизируют утят суточного возраста и уток родительского стада с целью получения от них иммунного молодняка. В настоящее время многие исследователи [2, 4, 7, 10] склонны отдавать предпочтение инактивированным вакцинам, индуцирующим длительный напряженный иммунитет и исключаящим риск возникновения латентной инфекции, обусловленной вакцинным вирусом.

Цель работы – сравнительное изучение антигенности живой и инактивированной вакцин против ВГУ I.

Материалы и методы исследований. Для изготовления опытных образцов вакцин использовали вакцинный штамм ЗМ-УНИИП вируса гепатита утят типа I. Вирусосодержащий материал получали на развивающихся утиных эмбрионах и в культуре клеток утиных фибробластов. Вирус в дозе 10^3 ЭЛД инокулировали в аллантаоисную полость 10 – 12 суточных утиных эмбрионов. Вирусосодержащий материал (хориоаллантаоисную жидкость и тушки) собирали от эмбрионов, павших после 24 ч инкубирования при температуре $37,0 \pm 0,5$ °С. Культуру клеток готовили из 14 – 15 суточных утиных эмбрионов по общепринятой методике. Ее культивировали в роллерных сосудах объемом 5,0 дм³ и стационарным способом в матрасах объемом 250 см³ при $37,0 \pm 0,5$ °С. В качестве ростовой использовали смесь сред Игла MEM/DMEM и 199 в соотношении 2:1 с 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота и антибиотиками (100 ЕД/см³ бензилпенициллина и 100 мкг/см³ стрептомицина сульфата). Множественность заражения вируса составляла 1,0 ТЦД₅₀/клетку, а время культивирования инфицированной культуры – 96 – 120 ч (в зависимости от способа). Концентрация вируса в зависимости от биологической модели репродукции равнялась $6,75 \pm 0,25$ Ig ЭЛД₅₀/см³ и $5,75 \pm 0,33$ Ig ТЦД₅₀/см³. Его инактивировали аминоэтилэтиленимином (производное азиридинов) в режиме постоянного перемешивания в течение 24 ч при $37,0 \pm 0,5$ °С. Полноту инактивации определяли трехкратными пассажами на утиных эмбрионах. Изготовление сорбированной и эмульгированной инактивированных вакцин, а также определение критериев их физических свойств проводили по ранее описанным в литературе методам [7]. При конструировании эмульгированной вакцины против ВГУ I использовали масляный адъювант Montanide ISA 70 (SEPPIC, Франция) в соотношении 30:70, а при изготовлении сорбированной вакцины – 6 % гель гидроокиси алюминия в конечной концентрации 0,3 %. Аттенуированная вакцина была изготовлена из вирусосодержащего материала,

полученного от зараженных штаммом 3М - УНИИП утиных эмбрионов, и защитной среды высушивания ВНИВИП в соотношении 2:1, имела вид однородной массы бледножелтого цвета, легко растворяющейся в физиологическом растворе. Ее опытные образцы содержали вакцинный штамм вируса гепатита уток в концентрации $6,25 \pm 0,15 \text{ Ig ЭЛД}_{50}/\text{см}^3$. Безвредность изготовленных вариантов инактивированной эмульгированной вакцины оценивали через 28 – 42 суток после иммунизации птицы по критериям, предложенным Н.Д. Stone [12]. Антигенную активность аттенуированной вирусвакцины проверяли посредством подкожного введения 2 - суточным утятам в дозе 10^4 ЭЛД_{50} по $0,5 \text{ см}^3$, а инактивированного препарата – взрослым уткам в дозе 10^6 ЭЛД_{50} по $0,6 \text{ см}^3$, используя в опытах серонегативную птицу. Пробы крови брали у вакцинированных утят на 7, 14 и 21е сутки, а у взрослых уток на 14, 21, 28 и 60е сутки после иммунизации. Полученную из них сыворотку исследовали на наличие специфических антител в β -варианте реакции нейтрализации (РН) [1] и ИФА [9].

Результаты исследований. Данные по изучению антигенной активности 3 опытных серий аттенуированной вирусвакцины свидетельствовали о том, что в течение всего периода наблюдения они индуцировали у утят выработку специфических антител с нарастающим титром как в РН, так и в ИФА (таблица 1).

Таблица 1 - Уровень специфических сывороточных антител у утят, иммунизированных аттенуированной вирусвакциной из штамма 3М УНИИП (n=10)

Серия вакцины	Уровень антител (РН \log_2 /ИФА*) на день после вакцинации			
	7	14	21	40
1	5,0 / 435	6,0 / 633	7,5 / 1912	7,0 / 1821
2	4,5 / 562	5,5 / 783	7,0 / 1513	7,2 / 1725
3	5,0 / 512	6,5 / 843	7,5 / 1956	8,0 / 2412

*Примечание: * - Обратные значения титра антител в ИФА.*

Нежелательных поствакцинальных реакций у утят не отмечали. Контроль образцов инактивированной эмульгированной вакцины против ВГУ I в зависимости от сроков хранения продемонстрировал стабильность их эмульсии. Местные реакции на их введение отсутствовали. Также не зарегистрировали клинических отклонений в состоянии здоровья птицы, что указывало на безвредность испытуемых препаратов. Оценка антигенности вакцин по динамике изменения титра вируснейтрализующих антител и среднего геометрического титра суммарных антител в ИФА указывала на положительную сероконверсию (таблица 2). Оба варианта инактивированной вакцины из штамма 3М-УНИИП вызывали в организме уток иммунологическую перестройку, индуцируя синтез специфических антител как к культуральному, так и эмбриональному антигену. Однако, последний обладал большей антигенностью.

Таблица 2 - Антигенность инактивированных форм вакцин против ВГУ

Серия вакцины	Уровень антител (РН log ₂ /ИФА*) на день после вакцинации			
	14	21	28	60
Эмульгированная культуральная вакцина	6,0 / 1176	8,0 / 1233	8,5 / 1369	9,5 / 3821
Эмульгированная эмбриональная вакцина	6,5 / 1758	8,5 / 2157	9,5 / 2557	10,0 / 4157
Сорбированная культуральная вакцина	6,0 / 883	7,0 / 1483	9,0 / 2871	8,5 / 2603
Сорбированная эмбриональная вакцина	7,5 / 1193	8,5 / 1595	9,5 / 3117	9,0 / 3093

*Примечание: * - Обратные значения титра антител в ИФА.*

Сравнительная оценка аттенуированной и инактивированных форм вакцины против вирусного гепатита утят типа I показала различную их антигенную активность, что соответствует данным литературы о применении аттенуированной вакцины для вакцинации 1 – 2 суточных утят и взрослых уток с целью получения иммунного молодняка [3, 5], а также инактивированной эмульгированной вакцины, которая у однократно привитых уток индуцировала образование высокого уровня специфических антител к возбудителю болезни [10]. Кроме того, при применении инактивированной вакцины ее реактогенных свойств, проявляющихся местными и общими реакциями организма, не наблюдали.

Заключение. Инактивированная эмульгированная вакцина против вирусного гепатита утят типа I обладает более высокими антигенными свойствами по сравнению с живой и сорбированной вакцинами. Сравнительная оценка антигенности и реактогенности инактивированных вакцин подтверждает высокую эффективность и хорошую переносимость эмульгированного варианта препарата – он пригоден для профилактики вирусного гепатита утят в стационарно неблагополучных хозяйствах.

Литература. 1. Белоусова, Р. В. Практикум по ветеринарной вирусологии / Р. В. Белоусова, Н. И. Троценко, Э. А. Преображенская. - 3-е изд., перераб.. – Москва : Колос, 2013. – 248 с. 2. Борисов, В. В. Инактивированные вакцины – возможные варианты применения в промышленном птицеводстве / В. В. Борисов, А. В. Борисов, С. К. Старов // Матер. конф. по птицеводству. - Москва, 2003. – С. 208-209. 3. Специфическая профилактика вирусного гепатита утят / С. В. Глейзер [и др.] // Птицеводство. – 2009. - № 3 (44). 4. Профилактика болезней птиц инактивированными вакцинами серии «Авикрон» / Э. Д. Джавадов [и др.] // Матер. Междунар. конгр. - СПб, 2009. – С. 30-31. 5. Эмбриональная вакцина против ВГУ / В. Н. Ирза [и др.] // Достиж. в соврем. птицеводстве: исследования и инновации : матер. XVI конференции. - Сергиев Посад, 2009. – С. 362–364. 6. Князев, В. П. Болезни водоплавающих птиц : монография / В. П. Князев. - Владимир, 2013. - 325 с. 7. Михайлов, А. О.

Иммунобиологические свойства инактивированной вакцины против вирусного энтерита гусей : автореф. дис. ... канд. вет. наук / А. О. Михайлов. - СПб, 2010. - 22 с. 8. Паникар, И. И. Вирусный гепатит утят: эпизоотология, диагностика и специфическая профилактика / И. И. Паникар // Пробл. зооинженерии и вет. мед. : сб. науч. статей, посвященных 150-летию со дня основания Харьковского зооветеринарного ин-та. - Харьков, 2001. - № 9 (1). - С. 24–27. 9. Трефилов, Б. Б. Чувствительность и специфичность ИФА при выявлении антител к вирусу гепатита утят типа I / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина, К. Ю. Дмитриев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - СПб. - 2018. - № 1. - С. 30–34. 10. Инактивированная эмульгированная вакцина против вирусного гепатита утят типа I / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина, Л. И. Явдошак, М. М. Трубицын // Ветеринария. - 2018. - № 2. - С. 20–23. 11. Improved duplex RP-CR assay for differential diagnosis of mixed infection of duck hepatitis A virus type 1 and type 3 in ducklings / L. L. Chen [et al.] // Methods. - 2013. - № 192. - P. 12–17. 12. Stone H.D. The preparation and efficacy of manually emulsified Newcastle disease oil-emulsion vaccines / H. D. Stone // Avian Dis. - 1991. - № 35. - P. 8–16.

УДК 619:618.1:612.4:615.032

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГЕСТЕРОН-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ У КОРОВ И ТЁЛОК

Николаев С.В.

Институт агrobiотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО
РАН, Российская Федерация

Целью исследований являлась оценка эффективности применения различных доз препарата Прогестамаг® включенного в протокол «Co-Synch», а также при терапии гипофункции яичников. Установлено, что максимальная оплодотворяемость после первого осеменения наблюдалась у телок, получавших 1 мл прогестина – 85,7 %, тогда как в группе без использования прогестерон-содержащего препарата и в группе, где инъецировали 2 мл средства, показатель был ниже на 45,7 %. Кратность осеменений на стельность среди телок, обработанных исследуемым препаратом в дозе 1 мл, была на 0,70 ($P \leq 0,001$) и 0,56 ($P \leq 0,05$) ниже по сравнению с контрольной и второй опытной группой соответственно. У коров, на фоне применения прогестероновой суспензии в схеме «Co-Synch» оптимальный результат установлен после введения 2 мл прогестина – кратность осеменений на оплодотворение была ниже на 0,25...1,35 по сравнению с животными других групп. При гипофункции яичников дозировка в 10 мл обуславливала сопоставимый результат, полученный на фоне обработки 2,5% раствором прогестерона, а оптимальный терапевтический эффект был выявлен среди животных, получавших по 5 мл препарата. Указанная дозировка характеризовалась на 0,50...0,69 меньшим индексом осеменений и в 2,3...2,5 раза более коротким периодом бесплодия ($P \leq 0,05$).