

УДК 57.043; 578.71  
© 2010

*М.Ю. Стегній,*

*кандидат  
біологічних наук*

*ННЦ «Інститут  
експериментальної  
і клінічної ветеринарної  
медицини»*

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ БІВАЛЕНТНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ХВОРОБИ МАРЕКА ПРИ ЗБЕРІГАННІ ЇЇ В РІДКОМУ АЗОТІ**

*Висвітлено ефективність і переваги застосування бівалентних вірусних вакцин проти хвороби Марека, обґрунтовано доцільність використання клітинноасоційованого вакцинного вірусу. Показано, що щеплення вакциною проти ХМ, яку зберігали в умовах рідкого азоту, дає змогу захистити 98% щепленого птахопоголов'я.*

Одним із ефективних шляхів захисту птахопоголов'я від інфекційних захворювань є його вакцинація. Безпечні високоімуногенні живі вірусні вакцини — кращі з існуючих вірусних вакцин [2]. Основна їх перевага — збалансована системна та локальна [7] імуноглобулінова і клітинна імунна відповідь організму на їхнє введення. Крім того, живі вірусні вакцини вирізняються низькою вартістю та створюють ранній специфічний захист через 1—2 тижні після вакцинації. Однак вищезазначені переваги живих вірусних вакцин проявляються тільки за умов дотримання певних правил їх зберігання, транспортування та використання.

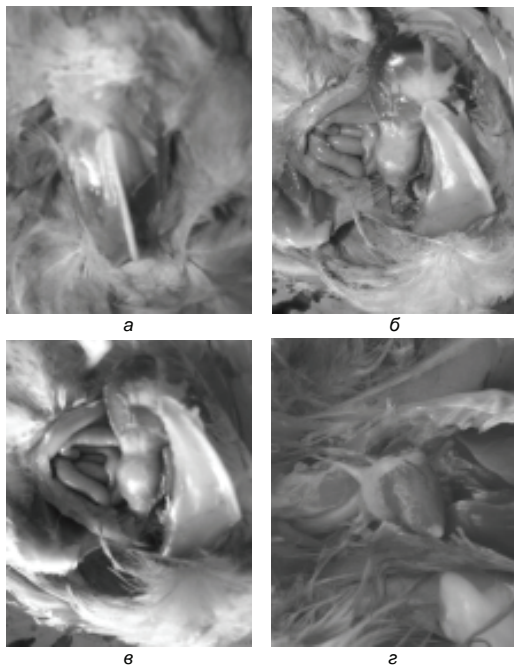
Основним заходом специфічної профілактики та боротьби з хворобою Марека (ХМ) є поголівне щеплення добового молодняка птиці живими вакцинами [2, 6]. Порівняльний аналіз засобів специфічної імунопрофілактики ХМ свідчить, що найбільшу імуногенність мають вакцини, до складу яких входить вірус ХМ першого серотипу. Атенуйовані штами ВХМ першого серотипу отримують пасажуванням у клітинних культурах [2]. В останні роки спостерігається тенденція до зниження ефективності вакцинації проти ХМ. Перебіг інфекції стає більш генералізованим і тяжким, розширюється коло сприйнятливої птиці [4]. Це відбувається через вакцинний прес при поголівному щепленні курчат і можливої комбінації з іншими вірусами. Під час вакцинації також необхідно враховувати, що високі рівні материнських антитіл можуть не захистити курчат від ХМ, але знижують ефективність застосовуваної гомологічної моновакцини. Тому для щеплення курчат доцільніше використовувати вакцинний вірус, асоційований з живими клітинами, ніж позаклітинний, який виготовляють для продажу у вигляді ліофілізованого препарату. Бівалентні та тривалентні вакцини значно ефективніші, ніж моновакцини. В Україні до цього часу використовують лише вакцини закордонного виробництва, які часто виявляються неефективними не тільки внаслідок необґрунтованого застосу-

вання, а й через невідповідні умови транспортування і зберігання. Тому в лабораторії біотехнології ННЦ «ІЕКМ» розроблено вакцину бівалентну культуральну проти ХМ, що за показниками якості відповідає вимогам ТУ У 24.4-00497087—015:2005 від 08.11.05 р. [1].

**Мета досліджень** — вивчення впливу умов зберігання, транспортування виготовленої вакцини та визначення ефективності імунного захисту птахопоголов'я вакциною бівалентною культуральною проти ХМ.

Для виготовлення вакцини використовували виробничі апатогенні штами герпесвірусів курей (*Gallid herpesvirus*) SBG та індичок (*Turkey herpesvirus*) FC-126, репродуковані в моношаровій культурі клітин фібробластів ембріонів курей, вільних від патогенної мікрофлори та розріджувача (2% ПЕГ на забуференому фізіологічному розчині з додаванням гліцерину). Вакцина — рідина жовто-рожевого кольору, яка містить суспензію інфікованих вірусами клітин, фасовану в кріопробірки. Виробничий штам SBG призначений для посилення дії FC-126. Та навіть часткові дози двох штамів були ефективнішими, ніж повна доза лише одного штаму.

**Матеріали і методи досліджень.** Контроль за показниками якості та відсутності контамінації бактеріями, мікоплазмами, грибами або сторонніми вірусами інфекційного бронхіту, грипу птахів, хвороби Ньюкасла, інфекційного ларинготрахеїту, інфекційного енцефаломієліту і віспо-дифтериту птахів виготовленої серії вакцини проводили згідно з Інструкцією щодо виготовлення та контролю вакцини бівалентної культуральної проти ХМ [3]. Титр інфекційності виробничих штамів-компонентів вакцини бівалентної культуральної проти ХМ визначали в первинно-трипсинізованій культурі фібробластів ембріонів курей 9—11-добової інкубації згідно з Методичними рекомендаціями [5]. Яйця для інкубації отримували із птахогосподарств, благополучних щодо інфекційних хвороб курей. З метою з'ясування можливої інфікованості курей щоквартально здійснювали контрольні дос-



**Патологічні зміни у внутрішніх органах птиці, інфікованої контрольним штамом JM VXM**

лідження жовтків яєць і серологічні тести проб крові курей різних вікових груп.

Нешкідливість для курчат та імуногенність вакцини визначали на 1-добових курчатах в умовах Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ». Кожний виробничий штам вірусу герпесу (SBG ВГК і FC-126 ВГ) бівалентної вакцини розводили із розрахунку 200 щеплюваних доз у 4 см<sup>3</sup> розріджувача і вводили по 0,2 см<sup>3</sup> (10-разова прищепна доза) внутрішньом'язово 2-м групам курчат 1-добового віку, кількістю по 20 гол. у кожній. Курчатам III групи вводили розріджувач в об'ємі 0,4 см<sup>3</sup>/гол. За збереженістю та фізіологічним розвитком курчат спостерігали впродовж 40 діб. Після закінчення дослідіду на 40-ву добу після введення компонентів вакцини бівалентної культуральної проти ХМ усіх курчат було знекровлено та проведено їх патологоанатомічний розтин.

Для визначення імуногенної активності вакцини використовували 3 групи 1-добових курчат по 30 гол. у кожній. Курчатам I групи щеплено бівалентну вакцину, що вміщувала по 1000 ФУО виробничих штамів SBG вірусу герпесу курей (ВГК) і FC-126 вірусу герпесу індичок (ВГ) в об'ємі 0,2 см<sup>3</sup>. Через 21 добу після вакцинації курчат I (дослідної) і II контрольної (не імунізовані — контроль патогенності вірусу) груп заражали контрольним штамом JM VXM першого серотипу в об'ємі 0,5 см<sup>3</sup>, розве-

денням цільної крові з культуральним середовищем 199 1:1, внутрішньочеревинно. Курчат III групи, не імунізованих і не заражених контрольним вірусом, залишали контролем фізіологічного розвитку. За курчатами спостерігали впродовж 70 діб, звертаючи увагу на характер і ступінь поствакцинальних реакцій, фізіологічний розвиток і збереження поголів'я. Потім курчат було забито з метою визначення можливих змін, характерних для ХМ. Після закінчення вищезазначених дослідів серії вакцини проведено вакцинацію 1-добових курчат у дозі 1000 ФУО кожного виробничого штаму герпесвірусу в об'ємі 0,2 см<sup>3</sup> розріджувача в птахогосподарствах Харківської області та південного регіону України.

**Результати досліджень.** Проведені дослідження свідчать, що інфекційна активність штампів-компонентів дослідної серії вакцини проти ХМ становила для FC-126  $4,3 \cdot 10^5$  та  $3,4 \cdot 10^5$  ФУО/см<sup>3</sup> відповідно. Установлено, що виробничі штами-компоненти вакцини та розріджувач, навіть у 10-разовій дозі нешкідливі для 1-добових курчат, тому що з групи курчат, яким вводили розріджувач, не пала жодна голова, а з груп, яким вводили виробничі штами SBG ВГК і FC-126 ВГ, пало 2 гол. у перші 3 доби життя з причини нерозсмоктаного жовтка. По закінченні дослідіду з визначення нешкідливості вакцини бівалентної культуральної проти ХМ усіх курчат було знекровлено й після проведення їх патологоанатомічного розтину специфічних змін, характерних для ХМ, не виявлено.

Результати досліджень щодо імуногенної активності вакцини показали, що на 18-ту добу після зараження у 2 гол. II групи (контроль вірусу) виявлено клінічні ознаки, характерні для нервової форми ХМ: апатія, відказ від корму, закинута назад голова, параліч крил, хитка хода. Цих курчат було забито, від них відібрано кров. На розтині виявлено атрофію кільових м'язів, потовщення стегового нерва, збільшення селезінки, бурси Фабриціуса, нирок. У подальшому пало ще 7 гол. На розтині загинилих курчат виявляли збільшення печінки (удвічі), яка мала мармуровий колір і була в'ялою, а також збільшення залозистого шлунка, нирок, селезінки. Серед курчат I (щеплених вакциною) та III груп (контроль фізіологічного розвитку) впродовж усього терміну спостереження не виявлено захворювання, загибелі та фізіологічних змін розвитку.

При контрольному забої і розтині курей для контролю патогенності штаму JM VXM 1-го серотипу (з 30 гол. залишилась 21) виявлено патологоанатомічні зміни (рис., а—г): у всього поголів'я — атрофію кільових м'язів і виснаження організму; збільшення в 2—4 рази серця та передсердя, з салоподібними включеннями,

перикардит; у 1,5—2 рази збільшення печінки, яка мала мармуровий або глинистий колір, була в'ялою, крім того, у 2-х гол. при розтині встановлено салоподібні включення в печінці; у 80% птиці збільшення у 1,5—4 рази залозистого шлунку і селезінки; у 40% — збільшення та набряк бурси, незначне збільшення нирок; у 5% спостерігали крововиливи кильових і стегнових м'язів, у деяких — міжм'язову інфільтрацію. Сідничний нерв змін не мав.

У курчат, щеплених вакциною бівалентною культуральною проти ХМ та у 21-добовому віці заражених контрольним штамом JM ВХМ 1-го серотипу та не вакцинованих і не заражених цим штамом, клінічних ознак захворювання і патологічних змін при розтині не виявлено. Імуногенна активність вакцини становила по 1000 ФУО/0,2 см<sup>3</sup> виробничих штамів вірусу герпесу курей (SBG) та вірусу герпесу індичок (FC-126).

Після перевірки за показниками якості вакциною проти ХМ на початку лютого 2009 р. співробітниками ННЦ «ІЕКВМ» проведено вакцинацію 16 тис. 1-добових курчат у птахогосподарства Харківської області та південного регіону. На наступну добу після вакцинації всі курчата були в доброму стані, падежу не спостерігали.

Згідно з ТУ вакцина має забезпечувати збереження 92—98% щеплених курчат за умов

відповідного її зберігання, транспортування, використання та дотримання санітарно-гігієнічних норм. Для цього вакцину транспортують у рідкому азоті в криобіологічному посуді, а розріджувач — у звичайній тарі обов'язково у присутності супровідника, проінструктованого щодо роботи з рідким азотом відповідно до вимог ГОСТ 17768 «Правил перевезення вантажів та багажу, що швидко псуються», і діють на цьому виді транспорту. Вакцину зберігають за температури –196°С у рідкому азоті в посуді Дьюара, а розріджувач — у темному прохолодному місці за температури не вище 5°С відповідно до вимог ГОСТ 15150. Відтаювання криопробірок, що зберігаються в рідкому азоті, слід здійснювати обережно. При цьому вакцину потрібно використати, тобто провести щеплення всього поголів'я 1-добових курчат упродовж не більше 1 год після розморожування. Ефективність вакцини зменшується у разі недотримання правил збереження та використання. Наприклад, вакцинація 16 тис. 1-добових курчат, що проводили співробітники ННЦ «ІЕКВМ», забезпечила 98% захисту щепленого птахопоголов'я. Водночас збільшення терміну використання (більше ніж 2 год) вакцини після розморожування знизило захист проти ХМ до 92% при вакцинації 2-ї партії 1-добових курчат (70 тис.) вакциною тієї самої серії.

## Висновки

*Розроблена бівалентна культуральна вакцина проти хвороби Марека активна та за показниками якості відповідає ТУ У 24.4-00497087—015:2005 від 08.11.05.*

*Дотримання правил зберігання і транспортування вакцини бівалентної культуральної*

*проти хвороби Марека в умовах рідкого азоту дає змогу захистити 98% щепленого птахопоголов'я. Водночас збільшення терміну використання більш ніж на 2 год після розморожування знижує захистну дію препарату до 92%.*

## Бібліографія

1. *Вакцина бівалентна культуральна проти хвороби Марека.* ТУ У 24.4-00497087—015:2005.

2. *Вирусные и вирусные вакцины/В.А. Сергеев, Е.А. Непоклонов, Т.И. Алипер — М.: Библионика, 2007. — 524 с.*

3. *Інструкція з виготовлення та контролю вакцини бівалентної культуральної проти хвороби Марека.* — Затверджено 08.11. 2005 р.

4. *Красников Г.А.* Иммунологические и гистологические аспекты патогенеза и поствакцинальных изменений при болезни Марека/Г.А. Красников,

Б.Т. Стегний, П.И. Вербицкий, В.С.Коровин//Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. — Харків, 2003. — Вип. 82. — С. 322—327.

5. *Методические рекомендации по работе с клеточными культурами птиц.* — Ленинград: ВНИИ-ВИП, 1988. — 75 с.

6. *Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В.* Вирусные болезни животных. — М.: ВНИИТИБП, 1998. — 928 с.

7. *Murphy B.R., Chanock R.M.* Fields Virology, 2001. — 435 p.