

EMERGENT FORM OF ENDOGENOUS PASTERELLOSIS IN COMPOSITION WITH RESPIRATORY PARASITOCENOSIS

Sosnitskiy A.I.

Lugansk National Agrarian University

Stegniy B.T.

NSC "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkiv

Korolenko L.S.

Senior Management of Veterinary Medicine in Dnipropetrovsk Region

Puzakov S.P.

Regional State Laboratory of Veterinary Medicine, Pyatyhatky, Dnipropetrovsk Region

P. multocida subs. septica induce endogenous acute low contagious infectious pathology, which is incompatible with life and which includes hemorrhagic pneumonia, intoxication, fever and sepsis. There was determined, that P. multocida subs. septica are obligate pathogenic, highly virulent and dose-independent microbes for mammals. Further study of biological characteristics of emergent agent is essential for perfection of prevention measures.

УДК 619:615.371:578.832.1:616.98:578.831.1

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОГО СПІВВІДНОШЕННЯ АНТИГЕНІВ ВІРУСУ ГРИПУ ПТИЦІ ТА НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ ПРИ РОЗРОБЦІ ТЕХНОЛОГІЇ ВИГОТОВЛЕННЯ ІНАКТИВОВАНОЇ ЕМУЛЬСОВАНОЇ АСОЦІЙОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВИСОКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ ТА НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ

Стегній А.Б., Головка В.О.

Харківська державна зооветеринарна академія

У статті представлені результати вивчення антигенних властивостей комбінованих інактивованих препаратів з різним співвідношенням вірусу високопатогенного грипу птиці та вірусу ньюкаслської хвороби. Визначена динаміка утворення антитіл до збудників цих захворювань при введенні курям співвідношень антигенів 1:1, 1:2, 2:1. Встановлено оптимальне співвідношення антигенів, що забезпечує високий рівень антитіл та яке може бути використано при виробництві інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби.

Грип птиці та ньюкаслська хвороба – особливо небезпечні вірусні захворювання багатьох видів сільськогосподарської та дикої птиці, тому питання їх контролю є актуальним для багатьох країн світу з розвиненим птахівництвом. Як один з елементів контролю може бути використана вакцинація птиці із застосуванням інактивованих вакцин [1, 2, 3]. Але використання інактивованих моновакцин має ряд недоліків та не завжди забезпечує отримання бажаного результату. У зв'язку з цим в останні роки в ветеринарній медицині широко використовуються багатокомпонентні, асоційовані вакцини, що складаються з декількох різних антигенів [4, 5, 6].

Використання асоційованих вакцин, в порівнянні з багаторазовими щепленнями різними монопрепаратами, має безумовні переваги щодо скорочення часу на утворення специфічного імунітету одночасно до декількох інфекцій, удосконалення схем профілактичних щеплень. Основною перевагою асоційованих вакцин, є те, що при їх застосуванні різко знижується кількість ін'єкцій, а кількість введених антигенів не зменшується [4, 7].

При розробці асоційованих вакцин значне місце займає вивчення антигенних властивостей та підбір оптимального співвідношення різних вірусів у складі вакцини для отримання максимального ефекту.

Тому мета нашої роботи – вивчити антигенні властивості різних співвідношень інактивованих вірусів грипу та ньюкаслської хвороби, а також визначити їх опти-

мальне співвідношення, що може забезпечити високий рівень специфічного захисту птиці від цих захворювань.

Матеріали та методи. *Вакцинні штами:* виробничий штам вірусу високопатогенного грипу птиці А/курка/Сиваш/02/05 H5N1 з гемаглютинуючою активністю 1:1024; виробничий штам вірусу ньюкаслської хвороби «ЛГ-85» з гемаглютинуючою активністю 1:256-512.

Інактивант: β-пропіолактон у кінцевій концентрації 0,05 %. Повноту інактивації визначали шляхом проведення 3-х послідовних «сліпих» пасажів на 9-11 добових комерційних курячих ембріонах (КЕ).

Ад'ювант: «Монтанід ISA-70» фірми «SEPPIC» (Франція). Співвідношення суміші інактивованої вірусної сировини та ад'юванту 30:70.

Експериментальні зразки вакцини: для проведення експериментальних досліджень було виготовлено 3 серії вакцини зі співвідношенням інактивованих вірусу грипу та ньюкаслської хвороби 1:1, 1:2, 2:1.

У якості контролю були використані моновалентні вакцини проти високопатогенного грипу птиці «АвіФлуВак-ІЕКВМ» та інактивована емульсована вакцина проти ньюкаслської хвороби з штаму ЛГ-85.

Дослідна птиця: антигенну активність визначали на курях кросу «Хайсекс білий» 120-добового віку. Для проведення досліджень було сформовано шість груп курей по 20 голів в кожній. Перша група курей була щеплена вакциною №1 зі співвідношенням інактивованих антигенів грипу та ньюкаслської хвороби 1:1; друга – вакциною №2 зі співвідношенням 1:2; третя – вакциною №3 зі співвідношенням 2:1; четверта – вакциною «АвіФлуВак-ІЕКВМ»; п'ята – інактивованою вакциною проти ньюкаслської хвороби зі штаму «ЛГ-85»; шоста група була контролем. Вакцини вводили дослідним групам внутрішньом'язово в дозі 0,5 см³ з ревакцинацією через 3 тижні.

Виявлення специфічних антитіл: кров від дослідної птиці для отримання сироваток відбирали перед щепленням та через три тижні після ревакцинації, а потім кожні 30 діб. Рівень антитіл у сироватці крові визначали в реакції затримки гемаглютинації (РЗГА) за методикою рекомендованою МЕБ [8]. Для проведення РЗГА було використана «Тест-система H5N1», виробництва ННЦ «ІЕКВМ». Титр антитіл 5 log₂ (1:32) та більше вважали позитивним.

Результати досліджень. Головною метою наших досліджень було вивчення властивостей різних співвідношень інактивованих вірусних антигенів викликати утворення у курей специфічних антитіл до вірусу грипу та ньюкаслської хвороби. Як відомо з літературних джерел, імунна відповідь птиці на одночасне введення декількох антигенів може відрізнятись від імунної відповіді на введення окремих антигенів. Ці дані були підтверджені в наших експериментах. Так, результати визначення антигенних властивостей комбінованих препаратів вірусу високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби, а також динаміка їх формування представлені в таблицях 1 та 2.

Таблиця 1 – Антигенні властивості та формування специфічних антитіл до вірусу грипу птиці H5 у сироватках крові курей після щеплення дослідними мікросеріями «Вакцина проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби комбінована емульсована»

Матеріал для досліджень	Діб після ревакцинації	Середній титр антитіл в РЗГА (log ₂)			
		Група №1 (спів. 1:1)	Група №2 (спів. 1:2)	Група №3 (спів. 2:1)	Група №4 («АвіФлуВак-ІЕКВМ»)
Сироватка крові	60	8,1	7,8	9,0	7,1
	90	7,4	7,7	7,7	6,0
	120	8,4	8,0	9,3	7,2
	150	7,9	7,0	8,5	5,5

Таблиця 2 – Антигенні властивості та динаміка формування специфічних антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби у сироватках крові курей після щеплення дослідними мікросеріями «Вакцина проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби комбінована емульсована»

Біо-матеріал, який піддавали дослідженню	Діб після ревакцинації	Середній титр антитіл в РЗГА (\log_2)			
		Група №1 (спів. 1:1)	Група №2 (спів. 1:2)	Група №3 (спів. 2:1)	Група №5 (вакцина ЛГ-85)
Сироватка крові	60	8,0	8,2	6,1	8,1
	90	6,4	7,3	6,5	8,1
	120	7,3	7,5	7,2	8,7
	150	7,6	8,8	7,7	8,7

Рівень антитіл до вірусу грипу Н5 та ньюкаслської хвороби у курей після щеплення дослідними серіями асоційованої вакцини порівнювали з рівнем антитіл у курей після щеплення моновакцинами. Так, нами було встановлено, що вже через 60 діб після ревакцинації рівень специфічних гемаглютининів до вірусу грипу Н5 у птиці усіх дослідних груп (№1, 2, 3) був достатньо високим і становив від 7,8 до 9,0 \log_2 . Середній рівень антитіл в дослідних групах перевищував середній рівень антитіл у курей щеплених моновакциною проти високопатогенного грипу птиці «АвіФлуВак-ІЕКВМ». Необхідно зазначити, що в даному досліді була використана вакцина «АвіФлуВак-ІЕКВМ» з титром гемаглютининів в сировині 1:128-1:256. Якщо брати до уваги попередні дослідження з вивчення антигенної активності вакцини АвіФлуВак-ІЕКВМ з титром гемаглютинаційної активності в сировині 1:1024, то вона забезпечує високий рівень антитіл до вірусу грипу птиці Н5 на 60 добу - 9,43 \log_2 , на 90 добу – 9,0 \log_2 ; на 120 добу – 8,89 \log_2 ; на 150 добу – 8,43 \log_2 [9]. При подальшому серологічному моніторингу середній титр антитіл залишався практично на одному рівні та поступово знижувався до 7,0-8,5 \log_2 через 150 діб після ревакцинації.

Що стосується ньюкаслської хвороби, то рівень антитіл у курей дослідних груп №1 та №2 становив 8,0-8,2 \log_2 через 60 діб після ревакцинації та практично не відрізнявся від рівня антитіл у курей щеплених моновакциною з штаму ЛГ-85 (8,1 \log_2). Тільки в групі №3 було зафіксовано низький рівень антитіл (6,2 \log_2), як у порівнянні з іншими дослідними групами, так і з контрольною. При подальшому спостереженні до 150 доби ця різниця зникла та рівень антитіл в усіх дослідних та контрольних групах становив 7,6-8,7 \log_2 .

Наглядно антигенна активність дослідних зразків асоційованої вакцини представлена та рисунках 1 та 2. Чітко можна прослідкувати запас антигенної активності при порівнянні з проєктивним титром антитіл проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби

Після завершення дослідів нами були проаналізовані результати серологічного моніторингу рівня антитіл до вірусу високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби у курей дослідних груп при порівнянні з контрольними групами та встановлено, що оптимальним співвідношенням, яке може забезпечити достатньо високий рівень специфічних антитіл до цих збудників, є співвідношення 1:1 інактивованого вірусу грипу та інактивованого вірусу ньюкаслської хвороби.

Висновки: 1. Вивчені антигенні властивості різних співвідношень інактивованих вірусів грипу та ньюкаслської хвороби. Встановлено, що співвідношення 1:1, 1:2, 2:1 забезпечують напрацювання у курей специфічних антитіл в титрах від 7,0 до 9,3 \log_2 до вірусу грипу Н5, та в титрах 6,1-8,8 \log_2 до вірусу ньюкаслської хвороби.

2. Оптимальним для забезпечення високого рівня специфічного захисту птиці від цих захворювань є співвідношення інактивованого антигену вірусу грипу птиці та вірусу ньюкаслської хвороби 1:1.

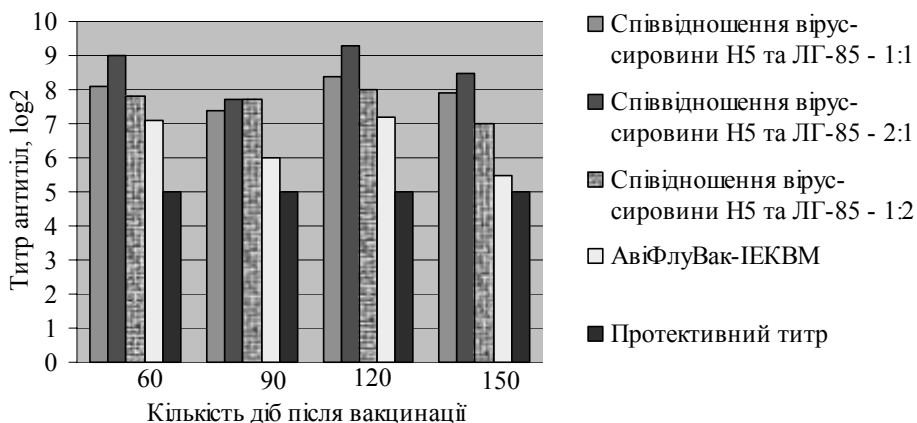


Рис. 1. Рівень антитіл до вірусу грипу Н5 у курей після введення різних співвідношень інактивованих антигенів.

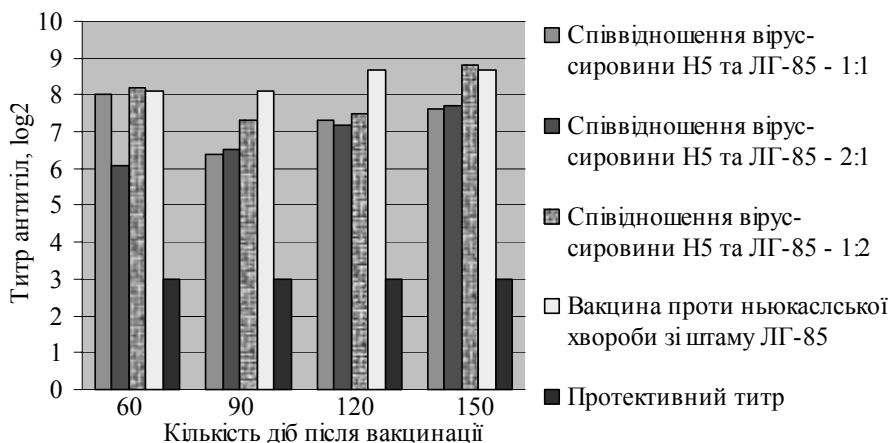


Рис. 2. Рівень антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби у курей після введення різних співвідношень інактивованих антигенів.

Список литературы

1. Боцуляк, Н.Я. Грип курей [Текст] / Н. Я. Боцуляк // Сучасне птахівництво. – 2006. – № 2. – С.18-19.
2. Венгеренко, Л.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия по защите птицеводческих хозяйств от заноса возбудителей заразных болезней [Текст] / Л.А. Венгеренко // Сб. тр. II Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 21-23 марта 2006 года. Москва, ВВЦ. – 2006 – С. 29-35.
3. Ямникова, С.С. Стратегия профилактики и борьба с трипом птиц [Текст] / С.С. Ямникова, В.И. Смоленский, Н.А. Власов, О.Ф. Хохлачев // Сб. тр. II Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 21-23 марта 2006 года. Москва, ВВЦ. – 2006. – С. 38-41.
4. Болотников, И.А. Практическая иммунология сельскохозяйственной птицы [Текст] / И.А. Болотников, Ю.В. Конопагов – СПб.: Наука, 1993. – 204 с.
5. Млушко, В.В. Борьба с инфекционными болезнями в промышленном птицеводстве [Текст] / В.В. Млушко // Ветеринария. – 1982. – № 5. – С. 36-37.
6. Сергеев, В.А. Вирусные вакцины [Текст] / В.А. Сергеев // – К.: Урожай, 1993. – 368 с.
7. Борисов, В.В. Инактивированные вакцины – возможные варианты применения в промышленном птицеводстве [Текст] / В.В. Борисов, А.В. Борисов, С.К. Старов и др. // Матер. Конф. По птицеводству. Зеленоград 2003. С. 208-209.
8. OIE Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [Електр. ресурс] / Спосіб доступу: <http://www.oie.int>. – Заголовок з екрану. Стегній, Б.Т., Рула, О.М., Музика, Д.В. Рівень та тривалість трансваріального імунітету у курей після щеплення вакциною «АвіФлуВак-ІЕКВМ» // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП УААН.-Харків, 2008. Вип. 62. част. 2. – с. 368-371

DETERMINATION OF THE OPTIMAL CORRELATION OF AVIAN INFLUENZA VIRUS AND NEWCASTLE DISEASE VIRUS ANTIBODIES AT THE DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY OF PREPARATION OF INACTIVATED EMULSIVE ASSOCIATED VACCINE AGAINST HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA AND NEWCASTLE DISEASE

Stegniy A.B., Golovko V.O.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

Results of study of antigenic characteristics of combined inactivated preparations with different correlation of highly pathogenic avian influenza and Newcastle disease viruses are presented in the paper. Dynamics of formation of antibodies to the agents of these diseases at introduction to chickens antibody correlations 1:1, 1:2, 2:1 has been determined. Optimal correlation of antigens, which ensure high level of antibodies and which may be used at production of inactivated vaccine against highly pathogenic avian influenza and Newcastle disease has been determined.

УДК 578.825.13:616

РОЗРОБЛЕННЯ ТЕСТ-СИСТЕМИ ELISA ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ПРОТИ ВІРУСІВ ХВОРОБ АУЄСКИ Й ТЕШЕНА

Стегній Б.Т., Бузун А.І., Антонов В.С., Борисова О.Л., Коваленко Л.В., Руденко О.П., Михайлова С.А., Усова Л.П., Вовк С.І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Метою досліджень було одержати компоненти та відпрацювати параметри тест-системи для постановки ІФА щодо визначення антитіл проти вірусів хвороби Ауєска (ХА) й Тешена (ХТ). Було виготовлено вірусні антигени, позитивні й негативні сироватки, імунопероксидазний кон'югат. Підібрано параметри проведення реакції: рН буферних розчинів, кількісний, температурний і часовий режими адсорбції реагентів, їх біологічна активність, фермент-субстратні співвідношення. У результаті проведених досліджень було встановлено, що розроблена тест-система відповідає чинним вимогам СОУ 01-37-176:2004.

Хвороби Ауєска (ХА) й Тешена (ХТ) становлять серйозну проблему для вітчизняного свинарства [1, 2]. Одним з головних заходів нагляду ХА й ХТ і прогнозування епізоотичної ситуації є серологічний моніторинг популяцій диких і свійських свиней, який здійснюється за допомоги серологічних методів, головним чином – реакції нейтралізації (РН) й класичного методу ELISA [3, 4]. Застосування методу ELISA, перш за все, зумовлено його суттєвими перевагами перед іншими методами: він забезпечує високу продуктивність праці; експресність, високі чутливість та специфічність виявлення антитіл; стабільність реагентів, автоматизацію постановки та обліку результатів реакції. В Україні вже створено технології виготовлення тест-систем ELISA: окремо, для діагностичного супроводу вакцинопрофілактики ХА [1, 4] та для лабораторної ідентифікації антитіл проти ХТ [2, 4]. Метою наших досліджень було створення тест-системи ELISA для діагностичного супроводу розробленої в ННЦ «ІЕКВМ» комплексної програми контролювання нейроінфекцій свиней у рамках держбюджетної теми № д/р 0107U003197.

Матеріали і методи. Для одержання вірусних антигенів використовували епізоотологічно актуальні для України штами УНДІЕВ-18в вірусу ХА [5] та «Бучач» [6], селекціоновані за ознакою імуногенності в перешеплюваній культурі клітин РК-15, для комплексної вакцинопрофілактики ХА й ХТ. Партію стаціонарних культур клітин у матрасах заражали вірусами в дозах, відповідно, 0,01 ТЦД вірусу ХА/клітину та 0,001 ТЦД вірусу ХТ/клітину, з забезпеченням відповідних норм санітарного режиму для запобігання перехресної контамінації культур клітин.