

1	2	3	4	5
КРС мясной породы	Герфордская	12	282	100
	Абердин-ангуская	2	126	100
	Шаролезская	3	151	50,5
	Лимузинская	1	30	46,7
КРС мясо-молочный тип	Симментальская	2	20	100
Всего КРС		73	1585	80,5
Овцы		4	115	45
Козы		10	150	80
Верблюды		3	34	71,4

Представленные в таблице данные свидетельствуют о широком распространении вируса респираторно-синцитиальной инфекции среди крупного рогатого скота 80,5 %, овец 45 %, коз 80 % и верблюдов 71,4 %. Антитела к вирусу РСИ были выявлены у больных и клинически здоровых животных.

Вывод. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о широком распространении вируса респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота у жвачных животных.

Список литературы

- Мищенко, В. А., Рахманов, А. М., Аянут, П. К. Ассоциативное течение респираторных инфекций у молодняка КРС // Сбор. Научных работ, ЛНАУ, Луганск, 2003, – 27/39, – С. 374-378.
- Мищенко, В. А., Павлов, Д. К., Думова, В. В., Мищенко, А. В., Киселев, М. Ю. Состояние проблемы респираторных болезней молодняка КРС // Ветеринария Кубани, 2008, – 5, С. 6-7.
- Мищенко, В. А., Гусев, А. А., Яременко, Н. А. и соавт. Особенности респираторных инфекций телят // Ветеринария, – 2000, 9, – С. 5-6.
- Мищенко, В. А., Павлов, Д. К., Думова, В. В. и соавт. Этиопатогенез респираторных заболеваний КРС // Вет. Консультант, 2008, – 11, С. 3-5.
- Сюрин, В. Н., Самуйленко, А. Я., Соловьев, Б. В. и др. Вирусные болезни животных. М., – 1998, – 928 с.
- Смирнов, А. М. Как мы работали // Ветеринарная жизнь, 2008, – 5.
- Obando, R., Hidalgo, M., Merza, M. et al. Seroprevalence to bovine virus diarrhoea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela // Prev. Vet. Med., 1999, – 41,4, – С. 271-278.
- Gulliksen, S. M., Yor, E., Lie, K. et al. Respiratory infections in Norwegian dairy calves // Am. D.S. Association, 2009, – С. 5139-5146.
- Глотова, А. Г., Глотова Т. И., Котенева С. В. и соавт. Эпизоотическая ситуация по респираторно синцитиальной инфекции КРС в хозяйствах по производству молока // Ветеринария, – 2010, – 7, С. 21-25.
- Мурзалиев, И. Д. Респираторные инфекции овец в племенных заводах Киргизской Республики // Вет. с-х ж-х, – 2010, 5, – 32-33.
- Gaffuri, A., Giacometti, M., Trangullo, V. M. et al. Serosurvey of roe deer, chamois and domestic sheep in the central Italian // Alps I. Wildl. Dis., – 1006, – 42(3), – P. 685-690.
- Solis-Calderon, I., Segura-Correa, I., Aguilar-Romero, F. et al. Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus-3 in beef cattle of Yucatan, Mexico // Prev. Vet. Med., – 2007, – 82, – С. 102-110.
- Hagglund, S. Epidemiology, Detection and Prevention of Respiratory Virus Infection in Swedish cattle with Special Reference to bovine of Respiratory Syncytial Virus // Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, – 2005.
- Jean-Francois, V. Bovine respiratory syncytial virus infection // Vet. Rec., – 2007, 38, – P. 153-180.

STUDY OF DISTRIBUTION OF RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS OF CATTLE IN RUMINANTS

Mischenko V.A., Dumova V.V., Kiselyov M.Yu., Mischenko A.V.

FSI ARRIA, Vladimir

Study of distribution of respiratory syncytial virus of cattle among ruminants in farms of Russian Federation is presented in the article. There was carried out clinical examination of animals, analyze of pathologic changes, allowed data of laboratory investigations of pathologic material and blood sera conducted by different diagnostic institutions on a commercial base.

УДК 619:616.98:578.831.1:636.5

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ГРИПУ ПТИЦІ ПІДТИПІВ Н5, Н7 ТА НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ

Музика Д.В.

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

На сьогоднішній день вакцинопрофілактика відіграє ключове місце в системі заходів боротьби з більшістю особливо небезпечних захворювань тварин та птиці, тому за останні 50 років розроблена велика кількість живих та інактивованих вакцин проти цих хвороб. У системі заходів попередження та боротьби з високопатогенним грипом птиці певна роль може належати специфічній профілактиці із застосуванням виключно інактивованих вакцин [1, 2]. Провідними закордонними виробниками вакцин для птахівництва запропоновано низку біологічних препаратів для профілактики грипу різних підтипів. Але це не зменшує актуальність подальших наукових досліджень в цьому напрямку, що пов'язано з високою мінливістю вірусів грипу та їх великими різноманіттям, появою нових штамів з новими біологічними властивостями. Перспективним є створення багатоконпонентних асоційованих біопрепаратів, які дозволяють оптимізувати специфічну профілактику та забезпечити комплексний підхід до захисту птиці від декількох захворювань одночасно. Науковцями ННЦ «ІЕКВМ» протягом останніх років розроблено декілька біопрепаратів на основі вітчизняних штамів для профілактики високопатогенного грипу як у вигляді моновакцини (АвіФлуВак-ІЕКВМ), так і у вигляді бівалентної (вакцина проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби) [3, 4].

Метою наших досліджень було вивчити можливість створення трьохвалентної інактивованої вакцини, яка дозволяла б проводити одночасну специфічну профілактику високопатогенного грипу птиці підтипів Н5, Н7, а також ньюкаслської хвороби.

Матеріали та методи. Для виготовлення експериментальних серій вакцини проти високопатогенного грипу птиці підтипів Н5, Н7 та ньюкаслської хвороби були використано виробничі штами вірусу грипу А/курка/Сиваш/02/05 Н5Н1, А/курка/Росія/87 (Н7Н1) та штамп «ЛГ-85» вірусу НХ. Інактивацію вірусів проводили β-пропіолактоном в кінцевій концентрації 0,05 %. Повноту інактивації визначали шляхом прове-

Розділ 4. Розробка та виробництво ветеринарних імунобіологічних препаратів

дення 3-х послідовних «сліпих» пасажів на 9-11 добових курячих ембріонах (КЕ). Для отримання експериментальної емульсованої вакцини використовували масляний ад'ювант «Монтанід ІСА-70», фірми «SEPPIC» (Франція). Співвідношення суміші інактивованої вірусної сировини та ад'юванту становили 30:70. Для проведення досліджень було виготовлено 4 експериментальні серії трикомпонентної вакцини з різним співвідношенням інактивованих антигенів 1:1:1, 2:1:1, 1:2:1, 1:1:2.

У досліджах були використані курчата кросу «Хай Лайн білий» віком 37 днів. Вакцинацію проводили внутрішньом'язово в дозі 0,5 см³ одноразово. Рівень антитіл у сироватці крові до вірусу грипу підтипу Н5, Н7 та вірусу НХ перевіряли через 30, 60, 90 днів після щеплення в РЗГА за загальноприйнятою методикою рекомендованою МЕБ. Титр антитіл до Н5, Н7 1:32 (5 log₂) та НХ 1:16 (4 log₂) і більше вважали захисним.

Результати досліджень. Основною метою дослідів було визначити за результатами імунної відповіді курчат можливість створення трьохвалентного вакцинного препарату для специфічної профілактики високопатогенного грипу птиці різних підтипів та ньюкаслської хвороби. Крім того необхідно було визначити мінімальну гемаглютинуючу активність інактивованих антигенів вірусів грипу Н5, Н7 та вірусу ньюкаслської хвороби, а також оптимальне співвідношення антигенів для виготовлення препарату. Для цього нами було виготовлено 4 експериментальні серії трьохвалентної інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби (Н5+Н7+НХ) з різним титром гемаглютининів в інактивованих антигенах. Біологічна активність в РГА вірусів грипу А/курка/Сиваш/02/05 (Н5Н1), А/курка/Росія/87 (Н7Н1) становила 1:128, а вірусу «ЛГ-85» ньюкаслської хвороби – 1:512-1024. Після завершення інактивації, перевірки її повноти, визначення відсутності контамінації антигенів сторонньою мікрофлорою було виготовлено експериментальні зразки з різним співвідношенням інактивованих антигенів (таблиці 1).

Таблиця 1 – Склад експериментальних серій трьохвалентної інактивована вакцина проти грипу птиці та ньюкаслської хвороби

№ серії	Співвідношення антигенів Н5:Н7:НХ	Активність інактивованих антигенів в РГА		
		Н5	Н7	НХ
Серія 1	1:1:1	1:128	1:64-128	1:512-1024
Серія 2	2:1:1	1:128	1:64-128	1:512-1024
Серія 3	1:2:1	1:128	1:64-128	1:512-1024
Серія 4	1:1:2	1:128	1:64-128	1:512-1024

Після щеплення експериментальними зразками вакцин за курчатами було встановлено спостереження. Протягом усього періоду дослідів (90 днів) будь-яких клінічних ознак, відхилень від фізіологічної норми виявлено не було як у дослідних курчат так і у контрольних. Результати серологічних досліджень наведені в таблицях 2-4. При серологічних дослідженнях курчат контрольної групи антитіл до вірусу грипу птиці підтипів Н5, Н7 та вірусу ньюкаслської хвороби не явлено протягом усього періоду спостереження (90 днів).

Таблиця 2 – Рівень антитіл до вірусу грипу Н5 в сироватках крові курчат після одноразового щеплення «Трьохвалентною інактивованою емульсованою вакциною проти грипу птиці та ньюкаслської хвороби Н5+Н7+НХ»

Номер групи та співвідношення антигенів Н5:Н7:НХ	Титр антитіл до вірусу грипу Н5 (log ₂)			
	До вакцинації	Через 30 днів	Через 60 днів	Через 90 днів
Дослідна 1 (1:1:1)	АТ відсутні	5,6±1,17	3,8±2,74	4,4±2,41
Дослідна 2 (2:1:1)	АТ відсутні	5,62±1,06	3,0±2,61	3,8±2,52
Дослідна 3 (1:2:1)	АТ відсутні	3,88±2,42	1,0±2,0	3,0±2,34
Дослідна 4 (1:1:2)	АТ відсутні	3,75±2,49	4,0±1,69	3,85±1,77

Таблиця 3 – Рівень антитіл до вірусу грипу Н7 в сироватках крові курчат після одноразового щеплення «Трьохвалентною інактивованою емульсованою вакциною проти грипу птиці та ньюкаслської хвороби Н5+Н7+НХ»

Номер групи та співвідношення антигенів Н5:Н7:НХ	Титр антитіл до вірусу грипу Н7 (log ₂)			
	До вакцинації	Через 30 днів	Через 60 днів	Через 90 днів
Дослідна 1 (1:1:1)	АТ відсутні	2,4±2,67	2,0±2,82	2,0±2,7
Дослідна 2 (2:1:1)	АТ відсутні	2,0±2,87	1,12±2,10	2,0±2,39
Дослідна 3 (1:2:1)	АТ відсутні	1,66±2,64	1,22±2,53	2,66±2,69
Дослідна 4 (1:1:2)	АТ відсутні	1,0±1,85	1,62±2,26	0,71±1,88

Таблиця 4 – Рівень антитіл до вірусу НХ в сироватках крові курчат після одноразового щеплення «Трьохвалентною інактивованою емульсованою вакциною проти грипу птиці та ньюкаслської хвороби Н5+Н7+НХ»

Номер групи та співвідношення антигенів Н5:Н7:НХ	Титр антитіл до вірусу НХ (log ₂)			
	До вакцинації	Через 30 днів	Через 60 днів	Через 90 днів
Дослідна 1 (1:1:1)	АТ відсутні	9,1±1,10	8,1±1,19	7,8±1,03
Дослідна 2 (2:1:1)	АТ відсутні	8,0±0,70	7,22±1,09	7,0±0,70
Дослідна 3 (1:2:1)	АТ відсутні	6,9±0,73	6,5±1,35	6,2±0,91
Дослідна 4 (1:1:2)	АТ відсутні	7,44±0,88	7,44±1,33	7,75±0,46

За результатами досліджень нами було встановлено, що введення усіх експериментальних зразків вакцини викликало специфічну імунну відповідь у курчат, яка коливалася в широких межах та залежала від активності антигенів вірусу грипу та ньюкаслської хвороби. Так, через 30 днів після одноразового введення вакцини рівень антитіл до вірусу грипу Н5 коливався від 3,75±2,49 до 5,62±1,06 log₂, до вірусу Н7 від 1,0±1,85 до 2,4±2,67 log₂, до вірусу НХ – від 6,9±0,73 до 9,1±1,10 log₂.

Як видно з результатів, наведених в таблицях 2-4, найбільш активно викликав напрацювання антитіл у курчат інактивованій вірусу НХ з гемаглютинаційною активністю 1:512-1024. Найбільший рівень антитіл до цього вірусу встановлено при введенні

вакцини з співвідношенням 1:1:1 – $9,1 \pm 1,10 \log_2$ на 30 добу. При застосування інших співвідношень не встановлено суттєвої різниці в рівні антитіл до вірусу НХ навіть при збільшенні кількості антигену вірусу НХ в 2 рази. При вивченні динаміки рівня антитіл протягом 90 днів встановлено, що він поступово знижувався до $6,2 \pm 0,91 - 7,8 \pm 1,03 \log_2$. Значних коливань протягом цього терміну встановлено не було. Необхідно зазначити, що напруженість імунітету до НХ при застосування усіх 4 експериментальних зразків протягом 90 днів становила 100 %, тобто усі курчата мали рівень антитіл вище захисного.

На другому місці за антигенною активністю та здатністю індукувати специфічні антитіла був інактивовані вірус високопатогенного грипу птиці Н5 з гемаглютинуючою активністю 1:128. Найбільший рівень антитіл встановлений у курчат, яким було введено експериментальні вакцини з співвідношеннями антигенів Н5:Н7:НХ 1:1:1 та 2:1:1 (серія 1 та 2) – $5,6 \pm 1,17 \log_2$ та $5,62 \pm 1,06 \log_2$, напруженість імунітету 80-87,5 % відповідно. При введенні курчатам вакцин з іншими співвідношеннями антигенів (серія 3 та 4) рівень антитіл був значно меншим $3,75 \pm 2,49$ та $3,88 \pm 2,42 \log_2$, відповідно низькою і була напруженість імунітету 44-50 %. Протягом 90 днів рівень антитіл до вірусу Н5 поступово знижувався.

Найменш активним виявився інактивовані антиген вірусу високопатогенного грипу птиці Н7 з рівнем гемаглютинінів 1:64-128. Незалежно від співвідношення одноразове введення курчатам експериментальних зразків вакцини викликало напрацювання антитіл не високого рівня $1,66 \pm 2,64 - 2,4 \pm 2,67 \log_2$. Відповідно низькою була і напруженість імунітету 10-25 %. При спостереженні протягом 90 днів рівень антитіл практично не змінився.

Таким чином, проаналізувавши результати досліджень можна стверджувати, що створення трьохвалентної інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці Н5, Н7 та вірусу ньюкаслської хвороби є перспективним напрямком досліджень. Базуючись на результатах порівняння антигенних властивостей різних співвідношень інактивованих антигенів ми дійшли висновку, що оптимальним є співвідношення у рівних пропорціях тобто 1:1:1. Воно забезпечує формування достатнього рівня специфічних антитіл за умови закладання у вакцинний препарат інактивованого антигену з достатньою гемаглютинуючою активністю. Крім того це технологічно та економічно виправдано та не призводить до зайвих витрат інактивованих антигенів. Ми встановили, що гемаглютинуюча активність інактивованих антигенів вірусів грипу Н5, Н7 та вірусу ньюкаслської хвороби повинна становити не менше 1:512-1024. Враховуючи той факт, що не всі віруси за своїми біологічними властивостями здатні забезпечувати високу гемаглютинуючу активність, для її підвищення можливо проведення концентрування інактивованих антигенів в умовах, які забезпечать збереження гемаглютинінів вірусів.

Висновки.

1. За результатами проведених досліджень встановлено перспективність наукових досліджень щодо створення трьохвалентної інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці підтипів Н5, Н7 та ньюкаслської хвороби на основі вітчизняних штамів. Такий біопрепарат дасть змогу оптимізувати, вдосконалити специфічну профілактику грипу та ньюкаслської хвороби у сільськогосподарської птиці.

2. Експериментально визначено та теоретично обґрунтовано оптимальне співвідношення інактивованих антигенів грипу підтипів Н5, Н7 та ньюкаслської хвороби в трьохвалентній вакцині. Введення курчатам вакцини з співвідношенням антигенів 1:1:1 забезпечує у них напрацювання специфічних антитіл в достатніх титрах за умови високої гемаглютинуючої активності інактивованих компонентів.

3. Встановлено мінімальну гемаглютинуючу активність інактивованих антигенів вірусів грипу та ньюкаслської хвороби, яка повинна бути не менше 1:512-1024.

Список літератури

1. Борисов, А.В. Научно-правовое обеспечение мероприятий по борьбе с высокопатогенным гриппом птиц [Текст] / Борисов А.В., Борисов В.В., Ирза В.Н., Рахманов А.М. // Труды Федерального центра охраны здоровья животных/ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ»). – Т.5. – Владимир: Транзит-икс, 2007. – С. 83-93. 2. Грипп А птиц: проблемы и пути их решения. [Текст] Санкт-Петербург - Ломоносов, 2006. – 201 с. 3. Бісюк, І.Ю. Антигенні та імуногенні властивості інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці «АвіФлуВак-ІЕКВМ» в лабораторних та виробничих умовах [Текст] / Бісюк І.Ю., Стегній Б.Т., Музика Д.В. // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2010. – Вип. 94. – С. 57 – 60. 4. Стегній, А.Б. Визначення оптимального співвідношення антигенів вірусу грипу та ньюкаслської хвороби при розробці технології виготовлення інактивованої емульсованої асоційованої вакцини проти високо патогенного грипу та ньюкаслської хвороби [Текст] / А.Б. Стегній, В.О. Голово // Міжвід. тем. наук. зб. «Ветеринарна медицина». Харків. – 2009. – №92. С. 448-452.

DETERMINING OF OPTIMAL STRUCTURE OF INACTIVATED VACCINE AGAINST AVIAN INFLUENZA OF SUBTYPES H5, H7 AND NEWCASTLE DISEASE

Muzyka D.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Results of scientific investigations concerning creation on the base of domestic strains of trivalent inactivated vaccine against highly pathogenic avian influenza of subtype H5, H7 and Newcastle disease are presented in the article. There was studied optimal ratio of inactivated antigens and its minimal hemagglutination activity. Immune response in chickens on one-shot injection of experimental series of vaccines was determined.