

УДК: 636.52 /.58:619:616.988+616.988.73-0845:615.371

РОЗРОБКА ВІТЧИЗНЯНОЇ ЧОТИРЬОХВАЛЕНТНОЇ АСОЦІЙОВАНОЇ ІНАКТИВОВАНОЇ ЕМУЛЬСИНВАКЦИНИ ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ, ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ КУРЕЙ, СИНДРОМУ ЗНИЖЕННЯ НЕСУЧОСТІ ТА РЕОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Наливайко Л.І., Безрукава І.Ю., Ніколаєнко Ю.Ю., Рябінін С.В.
Інститут птахівництва УААН

Резюме. Розроблено окремі технологічні параметри виготовлення вітчизняної чотирьохвалентної асоційованої інактивованої емульсинвакцини проти ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК), синдрому зниження несучості (СЗН-76) та реовірусної інфекції (АРВІ). Імунітет у щепленого поголів'я курей триває протягом 10 місяців.

Ключові слова: віруси НХ, ІБК, СЗН-76, РЕО, вакцина, кури.

Summary: It has been worked out the technology of producing the home four valence associated inactivated emulsion vaccine against the Newcastle disease, chicken infectious bronchitis, the syndrome of the egg production decrease and reovirus infection. The immunity in vaccinated hens lasts during 10 months.

Key words: viruses of the Newcastle disease, infectious bronchitis of hens, syndrome of the egg production decrease-76 and the avioreovirus infections, vaccine, hens.

Вступ. Програма специфічної профілактики найбільш розповсюджених вірусних захворювань курей може бути ефективною за умови імунізації птиці перед початком несучості інактивованими вакцинами. Особливість інактивованих вакцин полягає у здатності індукувати та підтримувати протягом усього продуктивного періоду стабільний рівень гуморального імунітету, у передачі антитіл нащадкам у високих титрах, а також у високій імунній відповіді на повторну вакцинацію [1]. Застосування асоційованих інактивованих вакцин дозволяє знизити стрес у птиці та вартість проведення вакцинації [8].

В Україні створені і впроваджені у виробництво інактивовані моновалентні вакцини проти синдрому зниження несучості (СЗН-76), ньюкаслської хвороби та трьохвалентна асоційована емульсинвакцина проти ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК) та синдрому зниження несучості (СЗН-76) [2,3,4,9].

Реовірусну інфекцію в нашій країні вперше було зареєстровано та описано Германом В.В. в 1972 р. [2].

Вивчення епізоотичної ситуації щодо реоваірусної інфекції за 2005-2008 рр. показало, що захворювання набуває поширення серед молодняку

сільськогосподарської птиці (гусенята, страусята, курчата-бройлери), а це в першу чергу пов'язано з імпортом різних кросів та порід птиці із багатьох країн світу. На ринку України проти даної інфекції домінують імпортні комерційні біопрепарати провідних фірм „Intervet” (Нідерланди), ”Fort Dodge” (США), ВНДІЗТ (Росія) та інші як у моновалентному, так і полівалентному варіантах [1,6,10, 11].

В науковій літературі є повідомлення про розробку інактивованої моновакцини на основі штаму СП-73 проти реовірусної інфекції, але на ринку біологічних препаратів вона не зареєстрована [7].

Мета наших досліджень - розробити технологію виготовлення чотирьохвалентної асоційованої інактивованої вакцини проти ньюкаслської хвороби (НХ), інфекційного бронхіту курей (ІБК), синдрому зниження несучості (СЗН-76) та реовірусної інфекції (АРВІ) з використанням штаму 1733 реовірусу.

Матеріали та методи. Вакцинні штами: «Ла-Сота» вірусу НХ, з інфекційним титром 9,5-10 lg ЕІД 50/02, і «Н-52» вірусу ІБК з інфекційним титром 5,5-6,0 lg ЕІД 50/02; патогенні штами: «Л-497» вірусу СЗН-76 з інфекційним титром 10 lg ЕІД50/02 та 1733 реовірусу з інфекційним титром 6,8 lg ТЦД 50/02.

Ад'ювант «Монтанід ІСА-70» фірми «SEPPIC» (Франція).

Інактивант – дімеретиленімін (ДЕІ) та етиленімін (ЕІ), виробництва інституту хімічної фізики (м.Москва). Повноту інактивації вивчали шляхом проведення 3 послідовних «сліпих» пасажів на 9-добових курячих, 10-11-добових качиних ембріонах та культурі клітин ФЕК СПФ-9-добових ембріонів.

Стерильність серій перевіряли згідно з ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности».

Напруженість імунітету після щеплення чотирьохвалентною емульсинвакциною проти вірусів НХ і СЗН-76 визначали в РЗГА, вірусів ІБК та РЕО – в ІФА з використанням діагностичного набору ВНДІЗТ (м. Володимир) та в РНГА з використанням еритроцитарного діагностикума ІЕКВМ.

Кури. Антигенну активність та нешкідливість вакцини вивчали на курях кросів «Хайсекс білий» та породі полтавська глиняста в лабораторних умовах. Для перевірки на імуногенність (n=20) вакцину вводили одноразово внутрішньом'язово в об'ємі 0,5 см³ за 30 діб до початку несучості, на нешкідливість (n=10) – 1,5 см³.

Результати досліджень. У 2006 році були розпочаті дослідження щодо розробки технології виготовлення чотирьохвалентної інактивованої емульсинвакцини проти НХ, ІБК, СЗН-76 та АРВІ.

Інактивацію штамів «Ла-Сота» вірусу НХ, «Н-52» вірусу ІБК та штаму 1733 реовірусу проводили дімеретиленіміном (ДЕІ) або етиленіміном (ЕІ) у концентрації 0,1 %, штаму «Л-497» вірусу СЗН-76 – 0,2 %.

Отримані інактивовані вірусні антигени було об'єднано з ад'ювантом «Монтанід ISA-70» у співвідношенні 30:70 (1:1:1:1), що при змішуванні в 2 етапи дало змогу одержати стабільну емульсію.

В лабораторних умовах було виготовлено дві мікросерії чотирьохвалентної інактивованої емульсинвакцини проти НХ, ІБК, СЗН-76 та АРВІ. Після перевірки біопрепарату на повноту інактивації, стабільність емульсії та стерильність дослідними мікросеріями емульсинвакцини щеплено курей породи полтавська глиняста у віці 120 діб і кросу «Хайсекс білий» - 90 діб. Через 300 діб після щеплення у курей породи полтавська глиняста захисні титри антитіл становили в ІФА до АРВІ – 767, ІБК – 1364. В РЗГА до НХ – 8,2 \log_2 ; СЗН-76 – 8,5 \log_2 (табл. 1).

Таблиця 1 - Перевірка на імуногенність курей породи полтавська глиняста, щеплених чотирьохвалентною інактивованою емульсин вакциною проти НХ, ІБК, СЗН-76 та АРВІ

Вакцина	Порода	Титри антитіл проги АРВІ (ІФА)										
		до щеплення	після щеплення через (діб):									
		30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	
С-1	полтавська глиняста	85	790	920	757	625	626	665	732	823	838	767
		Титри антитіл проти ІБК (ІФА)										
		115	4325	6424	3188	1361	1196	1285	1321	1537	1802	1364
		Титри антитіл проти НХ (РНГА)										
		2	10,2	10,5	10,0	9,6	9,5	9,2	9,3	9,0	8,5	8,2
Титри антитіл проти СЗН-76 (РНГА)												
0	7,2	9,4	9,3	8,0	9,5	8,0	8,0	7,2	8,7	8,5		

У курей кросу «Хайсекс білий» через 150 діб після щеплення захисні титри антитіл становили: до АРВІ– 2695, ІБК – 1925 (ІФА), до НХ і СЗН-76 – 9,6-9,5 \log_2 (РЗГА) відповідно, через 180 діб- до АРВІ –2881,ІБК–3201 (ІФА), до НХ і СЗН-76 – 8,7-9,4 \log_2 (РЗГА) відповідно. Через 270 діб титри антитіл зросли до 3025, 6163 (ІФА), 11,1 \log_2 та 10,4 \log_2 (РЗГА) відповідно. Через 330 діб титри антитіл до АРВІ поступово почали знижуватись і становили в ІФА 1517, тоді як до вірусів ІБК, НХ і СЗН-76 вони залишались на високому рівні і становили 6063 (ІФА), 10,9 та 10,4 \log_2 відповідно (табл. 2).

Таблиця 2 - Перевірка на імуногенність курей кросу «Хайсекс білий», щеплених чотирьохвалентною інактивованою емульсинвакциною проти НБ, ІБК, СЗН-76, АРВІ

Вакци на	Крос вік	Титри антитіл проти АРВІ (ІФА)											
		до щеп ле ння	після щеплення через (діб):										
			30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330
С.2	«Хай секс бі- лий»	112	1211	1362	2958	3553	2695	288	2230	2740	3025	2032	1517
		Титри антитіл проти ІБК (ІФА)											
		111	2181	2326	2332	4937	1925	32	4023	4847	6163	5488	6063
		Титри антитіл проти НБ (РЗГА), log ₂											
		3	11,5	11,0	10,3	9,7	9,6	8,7	9,2	9,2	11,1	8,9	10,9
		Титри антитіл проти СЗН-76 (РЗГА), log ₂											
0	11,0	10,1	9,6	9,9	9,5	9,4	9,4	8,5	10,4	8,8	10,4		

Дослідні серії вакцини для курей були нешкідливими, збереженість курей склала 100 %.

Висновки

1. Розроблено окремі технологічні параметри для виготовлення асоційованої інактивованої чотирьохвалентної вакцини проти НХ, ІБК, СЗН-76 та АРВІ.

2. Встановлено, що співвідношення антигенів з ад'ювантом Монтанід ІСА-70 30:70 при змішуванні в 2 етапи дає змогу одержати стабільну емульсію.

3. Виготовлено 2 лабораторні мікросерії асоційованої інактивованої емульсинвакцини проти НХ, ІБК, СЗН-76 та АРВІ. Встановлено, що вакцина не шкідлива для птиці і захисні титри антитіл до 4 інфекцій зберігаються протягом 330 діб після щеплення курей (термін спостереження).

Список літератури

1. Алиев, А. С. Реовирусная инфекция птиц [Текст] / А. С. Алиев Ветеринария с/х животных.- 2005.- № 12.- С. 28-32

2. Герман, В. В. Вивчення РНК - вмісних вірусів, виділених від індиків [Текст] / В. В. Герман, О. І. Єжова // Ветеринарія: Респ. міжвід. темат. наук. зб./ УНІЕВ.-Харків, 1972.-Вип. 44.-С. 36-42.

3. Герман, І. В. Вивчення вірулентних властивостей авіреовірусів, ізольованих від курей-несучок, бройлерів та гусенят [Текст] / І. В. Герман, В. В. Герман // Ветеринарна медицина України.- 2002- №7.-С. 37-38.
4. Герман, І. В. Реовирусная инфекция, иммунологический статус у страусов в зоне интенсивного птицеводства [Текст] / І. В. Герман, В. В. Герман, С. В. Ткаченко // Ветеринарна медицина.- 2004.-№ 84.-С. 219-222.
5. Кэлнэк, Б. У. Вирусный артрит [Текст] / Б. У. Кэлнэк [и др.] //Болезни домашних и с/х птиц.- Моства: «Аквариум», 2003.-С. 819-828
6. Мельников, В. В. Испытания ассоциированной инактивированной вакцины против ньюкаслской болезни и реовирусного теносиновита птиц [Текст] / В. В. Мельников, С. К. Старов, Л. В. Вдовина // Ветеринарна медицина: Респ. міжвід. темат наук. зб.- 2004.-Вип. 84.-С. 308-311.
7. Пархоменко, Л. И. Иммунобиологические свойства авиреовирусов кур и индеек [Текст] : дисс....канд. вет. наук : - Х., 1997.- 191 с.
8. Сюрин, В. Н. Реовирусная инфекция птиц [Текст] /В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина //Вирусные болезни животных.- М.: ВНИТИБП, 1998.- С. 17-24
9. Сергеев, В. А. Вирусные вакцины [Текст] / В. А. Сергеев. - К.: „Урожай”, 1993.- 369 с.
10. Hitchner, S. B. Poultry vaccine laboratories in the United States: A historical perspective [Text] / S. B. Hitchner // Avian Dis.- 1996.- Vol. 40, N2.-P. 255-265.
11. Rerik, M. Comparison of a vaccine strain and field isolated ofavian reovirus by Tioligonueleotide mapping [Text] / M. Rerik, A. Silim // Aniodi.-1992.-V. 36, №.2.- P. 237-246.