

Музика Д.В., кандидат ветеринарних наук

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

**АНТИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ АСОЦІЙОВАНИХ ІНАКТИВОВАНИХ
ПРЕПАРАТІВ ВІРУСУ ГРИПУ ПТИЦІ ТА НЬЮКАСЛСЬКОЇ
ХВОРОБИ ПРИ ВВЕДЕННІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІЙ ПТИЦІ
РІЗНИХ ВИДІВ**

Рецензент – кандидат ветеринарних наук А.І. Бузун

У статті наведені результати вивчення антигенних властивостей інактивованих асоційованих препаратів вірусу високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби при внутрішньому введенні сільськогосподарській птиці різних видів (кури, гуси, індик, качки). Встановлено рівень антитіл у курей, качок, гусей та індиків після дворазового щеплення, а також відсутність взаємного впливу інактивованих вірусів грипу та ньюкаслської хвороби на імунну відповідь. При проведенні досліджень виявлено різну антигенну активність виробничих штамів вірусу грипу та ньюкаслської хвороби у сільськогосподарської птиці різних видів. Результати досліджень свідчать про необхідність продовження роботи з пошуку нових більш антигенно активних штамів вірусів.

Ключові слова: грип птиці, ньюкаслська хвороба, антигенні властивості, рівень антитіл.

Постановка проблеми. Грип птиці та ньюкаслська хвороба входять до хвороб, які за класифікацією Міжнародного Епізоотичного Бюро відносяться до особливо небезпечних. Для успішної боротьби та профілактики ньюкаслської хвороби в світі широко використовують щеплення птиці живими та інактивованими вакцинами. Ця система специфічної профілактики дуже давно та достатньо ефективно працює в багатьох країнах світу[1, 2]. Що стосується грипу птиці, то на сьогоднішній день не існує універсальної стратегії специфічної профілактики цього захворювання в зв'язку з біологічними особливостями збудника. В країнах з розвиненим птахівництвом вакцинація як спосіб боротьби та профілактики грипу не використовується та заборонена.

Аналіз основних досліджень і публікацій. В Україні для профілактичної імунізації птиці проти ньюкаслської хвороби у господарствах з різною технологією утримання використовують інактивовані або живі вакцини у вигляді моно- або полівалентних біопрепаратів. Щодо високопатогенного грипу птиці, то на території України профілактична імунізація не використовується, але спалахи на території Криму в 2006 - 2007 роках підтвердили, наскільки реальна загроза повторного виникнення даного захворювання [3, 4].

Не дивлячись на обмеження у використанні вакцинації проти грипу птиці в світі, науковці продовжують вивчати антигенні властивості різних штамів вірусів грипу, тому метою наших досліджень було вивчення антигенних властивостей асоційованих інактивованих препаратів вірусу високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби при введенні сільськогосподарській птиці різних видів, а також вивчення їх взаємного впливу на формування специфічного імунітету.

Матеріали і методи досліджень. Для виготовлення експериментальних асоційованих інактивованих препаратів було використано виробничий штам вірусу ВПГП «А/курка/Сиваш/02/05» H5N1, виробничий штам вірусу НХ «Ла-Сота». Інактивацію вірусів проводили β -пропіолактоном у кінцевій концентрації 0,05 %. Повноту інактивації визначали шляхом проведення 3-х послідовних «сліпих» пасажів на 9-11 добових курячих ембріонах (КЕ). В дослідженнях використовували масляний ад'ювант «Монтанід ISA-70» фірми «SEPPIC» (Франція). Співвідношення суміші інактивованої вірусної сировини та ад'юванту становили 30:70. Для проведення досліджень було виготовлено експериментальні асоційовані препарати інактивованих вірусів грипу птиці та ньюкаслської хвороби у співвідношенні антигенів 1:1.

У дослідах була використана сільськогосподарська птиця: кури кросу «Ломан білий» віком 120 діб; індики кросу «Харківський-56» віком 140 діб; качки порід «Українська біла» та «Чорна білогруда» віком 150 діб; гуси породи «Велика сіра» віком 145 діб. Асоційовані інактивовані експериментальні препарати вводили курям внутрішньом'язево в дозі 0,5 см³ дворазово з інтервалом 3 тижні, індикам - внутрішньом'язево в дозі 1,0 см³ дворазово з ін-

тервалом 3 тижні, гусям - внутрішньом'язево в дозі 2,0 см³ дворазово з інтервалом 3 тижні, качкам – внутрішньом'язево в дозі 1,0 см³ дворазово з інтервалом 3 тижні. Рівень антитіл у сироватці крові до вірусу грипу підтипу H5 та вірусу НХ перевіряли кожні 30 діб в РЗГА за загальноприйнятою методикою, рекомендованою МЕБ, використовуючи вітчизняну тест-систему «Аві-ФлуТест H5N1» та інактивованій антиген вірусу НХ. Титр антитіл до H5 1:32 (5 log₂) та НХ 1:16 (4 log₂) і більше вважали позитивним.

Результати та обговорення. Результати досліджень рівня антитіл у курей впродовж 330 діб після дворазового введення інактивованих препаратів наведені в таблиці 1.

1. Рівень АТ у курей до вірусу ВПГП та НХ після введення асоційованого інактивованого препарату НХ (Ла-Сота)+ H5

	Діб після ревакцинації										
	330	660	990	1120	1150	1180	2210	2240	2270	3300	3330
АТ до вірусу ВПГП log ₂	9,22±1,09	7,10±0,40	8,00±1,09	6,83±0,98	6,00±1,41	7,66±0,50	7,20±0,44	7,60±0,54	6,80±0,44	6,20±0,44	4,00±2,34
АТ до вірусу НХ log ₂	12,5±1,01	10,0±1,41	10,83±0,75	10,83±0,98	8,60±0,54	7,66±0,57	8,60±0,54	8,20±1,09	7,60±1,14	7,20±1,30	6,80±0,83

Як видно з результатів, наведених у таблиці 1, вже через 30 діб після дворазового введення у курей сформувався достатньо високий рівень АТ до обох інфекцій. Так титр АТ до ВПГП становив 9,22±1,09 log₂, що стосується АТ до НХ їх рівень був 12,5±1,01 log₂. При подальшому спостереженні було встановлено, що цей рівень АТ тримався протягом 120 діб, після чого став поступово знижуватися. Необхідно зазначити, що протягом 300 діб спостереження рівень АТ у курей до ВПГП та ВНХ не знижувався нижче захисного рівня 5 log₂ для ВПГП та 4 log₂ для вірусу НХ. Зниження нижче цього рівня було зафіксоване тільки через 330 діб.

Подальші дослідження ми спрямували на визначення антигенних властивостей у водоплавної птиці (качок, гусей) та індиків. Результати досліджень рівня антитіл у сироватках крові качок наведені в табл. 2.

**2. Рівень АТ до вірусів грипу птиці H5 та НХ у сироватках крові качок
після введення асоційованих інактивованих препаратів
НХ (Ла-Сота+H5)**

	Діб після ревакцинації								
	30	60	90	120	150	180	210	240	270
АТ до вірусу ВПГП $\log_2$	7,00±1,49	6,66±1,22	6,88±1,05	6,37±0,74	6,28±0,75	5,28±0,48	3,16±2,48	2,25±2,62	1,33±2,30
АТ до вірусу НХ $\log_2$	7,30±1,49	8,66±1,50	9,22±0,83	8,00±1,77	7,28±0,75	6,28±1,38	6,16±1,16	5,75±1,25	5,33±1,15

Встановлено, що через 30 діб після дворазового введення качкам препаратів АТ до вірусу грипу та вірусу НХ з'явилися в титрах $7,00 \pm 1,49 \log_2$ та $7,30 \pm 1,49 \log_2$ відповідно. Аналізуючи результати серологічних досліджень, ми прийшли до висновку, що поступове зниження відбулося тільки через 150 діб. Необхідний для імунного захисту титр антитіл тримався у дослідної птиці протягом 270 діб.

Наступним етапом досліджень було вивчення антигенних властивостей цих препаратів у гусей. Результати серологічних досліджень наведені в таблиці 3.

Так нами встановлено, що через 30 діб після дворазового введення інактивованих препаратів рівень антитіл становив $6,58 \pm 1,08$ та $9,25 \pm 1,60 \log_2$ до вірусу грипу та вірусу ньюкаслської хвороби відповідно. При подальшому спостереженні було виявлено, що до 60-90 доби після ревакцинації відмічався приріст АТ до ВПГП та НХ. Максимальний рівень АТ становив $8,50 \pm 1,77 \log_2$ на 90 добу після щеплення.

**3. Рівень АТ до вірусів грипу птиці H5 та НХ у сироватках крові гусей
після введення асоційованих інактивованих препаратів
НХ (Ла-Сота+H5)**

	Діб після ревакцинації								
	30	60	90	120	150	180	210	240	270
АТ до вірусу ВПГП $\log_2$	6,58±1,08	7,81±0,98	8,50±1,77	7,57±1,90	7,85±1,86	7,57±1,13	4,71±3,30	4,00±0	4,00±0
АТ до вірусу НХ $\log_2$	9,25±1,60	10,90±1,57	10,40±3,27	10,14±0,69	8,57±0,97	8,00±0,57	7,66±0,51	7,00±0	6,00±0

Також нами встановлено, що поступове зниження специфічних до ВПГП АТ розпочалося через 150-180 діб після ревакцинації. Що стосується НХ, то через 30 діб після ревакцинації рівень антитіл становив $9,25 \pm 1,60 \log_2$ з тенденцією до подальшого збільшення до $10,40 \pm 3,27 \log_2$ через 90 діб. Поступове зниження рівня АТ розпочиналося через 120-150 діб після дворазового щеплення.

Після завершення досліджень по вивченню антигенних властивостей інактивованих препаратів грипу та ньюкаслської хвороби у водоплавної птиці такі дослідження були продовжені на індиках. Результати наведені в таблиці 4.

4. Рівень АТ до вірусів грипу птиці H5 та НХ у сироватках крові індиків після введення асоційованих інактивованих препаратів НХ (Ла-Сота+H5)

	Діб після ревакцинації								
	30	60	90	120	150	180	210	240	270
АТ до вірусу ВПГП $\log_2$	$3,07 \pm 2,49$	$5,54 \pm 2,20$	$4,70 \pm 2,11$	$4,22 \pm 2,72$	$4,33 \pm 2,33$	$4,00 \pm 0,0$	0	0	0
АТ до вірусу НХ $\log_2$	$6,28 \pm 2,01$	$7,45 \pm 3,04$	$6,00 \pm 2,58$	$6,33 \pm 1,73$	$5,83 \pm 1,16$	$5,00 \pm 0$	$5,00 \pm 0$	0	0

Через 30 діб після ревакцинації титр специфічних АТ до вірусу грипу становив $3,07 \pm 2,49$ та $6,28 \pm 2,01 \log_2$ до вірусу ньюкаслської хвороби. Протягом наступних 30 діб спостерігалось збільшення рівня АТ до $5,54 \pm 2,20 \log_2$. До 150 доби після ревакцинації рівень антитіл був відносно стабільним. Суттєве зниження рівня АТ розпочалося після 180 доби. Що стосується НХ, то рівень антитіл до збудника через 30 діб після дворазового введення препарату становив $6,28 \pm 2,01 \log_2$. Протягом наступних 30 діб відбувався приріст антитіл до рівня $7,45 \pm 3,04 \log_2$. Починаючи з 90 доби після дворазового введення, розпочався поступовий спад рівня антитіл до $5,00 \pm 0 \log_2$ через 210 діб.

Висновки:

1. За результатами серій дослідів нами встановлені хороші антигенні вла-

стивості інактивованих асоційованих препаратів, що містять у своєму складі інактивовані віруси високопатогенного грипу птиці та ньюкаслської хвороби. Так дворазове введення препарату викликає утворення специфічних антитіл до вірусу грипу H5 в титрах $3,07 \pm 2,49 - 9,22 \pm 1,09 \log_2$, а до вірусу ньюкаслської хвороби в титрах $6,28 \pm 2,01 - 12,5 \pm 1,01 \log_2$ у сільськогосподарської птиці різних видів.

2. Введення інактивованого асоційованого препарату курям забезпечувало формування достатньо тривалого імунітету (330 діб) із значним запасом активності. В той же час тривалість імунітету у водоплавної птиці та індиків була значно меншою. Так захисний титр антитіл до ВПГП та НХ у качок, гусей, індиків знижувався до критичної відмітки (нижче протективного рівня) вже через 90-210 діб.

3. Ми встановили, що одні і ті ж виробничі штами вірусу мають різні антигенні властивості у птиці різних видів, що свідчить про необхідність продовження досліджень з пошуку більш антигенно активних штамів. Крім того, ми не встановили суттєвого взаємного впливу інактивованих вірусів на антигенні властивості при одночасному введенні.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Венгеренко Л.А. Ветеринарно-санитарные мероприятия по защите птицеводческих хозяйств от заноса возбудителей заразных болезней [Текст] // Сб. тр. II Международного ветеринарного конгресса по птицеводству 21-23 марта 2006 года. Москва, ВВЦ. – 2006 – С. 29–35.
2. Сергеев В.А. Вирусные вакцины [Текст]. – К.: Урожай, 1993. – 368 с.
3. Стегний, Б.Т. Роль факторов природно водной среды в возникновении высокопатогенного птичьего гриппа птиц в АР Крым [Текст] / Б.Т. Стегний, А.И. Бузун, М.В. Мирошниченко, Е.Н. Белявцева, Д.В. Музыка, Н.М. Пасюга, С.М. Куземко // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. Зб. – Х., 2006. – Вип. 87. – С. 186 – 192.
4. Стегний, Б.Т. Аналіз епізоотичної ситуації у неблагополучних щодо високопатогенного пташиного грипу пунктах на території АР Крим, ізоляція та ідентифікація збудника [Текст] / Б.Т. Стегний, І.Ю. Бісюк, А.П. Герелович, Д.В. Музыка, А.І. Бузун // Ветеринарна медицина України – 2007. – Вип. № 1. – С. 14 – 16.