

УДК 619:578.831:636.5

**Насонов И.В.**, доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>**Зинина Н.В.**, кандидат биологических наук<sup>1</sup>**Бубашко О.А.**, кандидат ветеринарных наук<sup>1</sup>**Железко А.Ф.**, кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>2</sup>**Пищухина А.О.**, аспирант<sup>1</sup>**Белькович А.А.**, начальник лаборатории<sup>3</sup><sup>1</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь<sup>2</sup>УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь<sup>3</sup>ОАО «1-я Минская птицефабрика», г. Минск, Республика Беларусь

## ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА У ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ И ГОЛУБЕЙ В ЛАБОРАТОРНЫХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

### Резюме

В статье представлены результаты испытаний иммунологической эффективности, инактивированной эмульгированной вакцины для профилактики болезни Ньюкасла у домашней птицы и голубей в экспериментальных и производственных условиях.

**Ключевые слова:** болезнь Ньюкасла, штаммы вируса болезни Ньюкасла, вакцина, адъювант, голуби, куры.

### Summary

The article presents the results of testing the immunological efficacy of an inactivated emulsified vaccine for the prevention of Newcastle disease in poultry and pigeons under experimental and production conditions.

**Keywords:** Newcastle disease, Newcastle disease virus strains, vaccine, adjuvant, pigeons, chickens.

Поступила в редакцию 15.05.2023 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Ньюкасла – высококонтагиозная, сопровождающаяся поражением нервной системы, высокой летальностью и наносящая большой экономический ущерб инфекция, которая относится к особо опасным инфекциям птиц по списку А ОIE (Международное эпизоотическое бюро – Всемирная организация охраны здоровья животных) [1]. Вследствие огромного экономического ущерба, наносимого болезнью Ньюкасла, ВОЗ относит ее к группе наиболее опасных болезней продуктивных животных. Практически во всех странах мира проводится поголовная вакцинация сельскохозяйственной птицы отряда куриных против болезни Ньюкасла [2].

Очень высокая эпизоотологическая опасность заболевания связана с разносом инфекции на разные континенты с птицеводческой продукцией. Экономический ущерб от болезни Ньюкасла значительный ввиду высокой заболеваемости непривитой птицы (среди цыплят – до 100 %) и летальности (60–90 %). Переболевшие цыплята

плохо растут [3]. Большие затраты связаны с проведением жестких карантинных мероприятий и уничтожением больной и подозрительной в заболевании птицы.

В естественных условиях болезнь Ньюкасла чаще регистрируют у птиц из отряда куриных (куры, индейки, цесарки, фазаны, павлины). Также регистрируются случаи заражения синантропных птиц (голуби, воробьи, сороки, попугаи, ястребы) [4]. Степень восприимчивости к заболеванию птицы разных пород и возраста неодинакова.

В настоящее время в Республике Беларусь и соседних странах регистрируется широкое распространение болезни Ньюкасла с характерными симптомами среди домашних и диких голубей. Циркуляция вируса болезни Ньюкасла среди голубей опасна для промышленного птицеводства вследствие возможности прямой передачи голубинового варианта вируса ньюкаслской болезни сельскохозяйственной птице.

В последнее время в Республике Беларусь возрос интерес к декоративному

голубеводству. Привозная птица становится постоянным источником новых вирулентных штаммов болезни Ньюкасла на территории нашей страны. Вследствие скученного содержания и низкой естественной резистентности одомашненной птицы эпизоотия болезни Ньюкасла протекает у голубей особенно остро, часто со 100%-ной заболеваемостью и летальностью. Пройдя через организм голубя как чувствительного биологического объекта вирус болезни Ньюкасла усиливает свою вирулентность.

Содержание домашних голубей предполагает их свободный вылет, при этом домашние голуби легко контактируют с дикими сородичами, обмениваясь, таким образом инфекционными патогенами. И домашних, и диких голубей привлекают птицеводческие помещения и частные подворья, куда постоянно осуществляется подвоз кормов для сельскохозяйственной птицы. Таким образом, домашний голубь является важным звеном в эпизоотической цепи распространения болезни Ньюкасла на территории нашей страны.

На сегодняшний день домашняя птица, содержащаяся на частных подворьях, вакцинируется против ньюкаслской болезни бесплатно живыми вакцинами. Следует отметить, что иммунитет после иммунизации живыми вакцинами против ньюкаслской болезни сохраняется не более трех месяцев. В период между вакцинациями домашняя птица длительный период бывает незащищенной. После иммунизации птицы инактивированной вакциной против ньюкаслской болезни иммунитет сохраняется до 12 месяцев и более.

Таким образом, вакцинопрофилактика – основной фактор контроля эпизоотического процесса, а вакцинация голубей против болезни Ньюкасла прерывает эпизоотическую цепь, в которой домашний голубь является источником, резервуаром и переносчиком болезни для сельскохозяйственной промышленной и домашней птицы.

В целях биологической безопасности Республики Беларусь разработка технологии производства и контроля отечественной инактивированной вакцины против болезни Ньюкасла для иммунизации домашних птиц и голубей является актуальной и необходимой задачей. Создание такой вакцины расширит рынок биопрепаратов Рес-

публики Беларусь, позволит привлечь новый сегмент рынка и в перспективе может сделать ее экспортруемой продукцией.

**Целью нашей работы** на данном этапе являлось наработка опытной партии вакцины и испытание ее иммунологической эффективности в экспериментальных и производственных условиях.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе отдела болезней птиц и пчел РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Для конструирования опытной партии вакцины для профилактики болезни Ньюкасла у домашних птиц и голубей были использованы производственные вакцинные штаммы «КМИЭВ-V104» и «КМИЭВ-V142» вируса болезни Ньюкасла, депонированные в коллекции культур микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

При изготовлении опытной партии вакцины для профилактики болезни Ньюкасла (НБ) у домашних птиц и голубей для заражения SPF-эмбрионов с целью накопления вирусосодержащего материала, идущего на составление серии вакцины, использовали только стерильный вирусосодержащий материал (экстраэмбриональную жидкость) SPF-развивающихся эмбрионов кур (РКЭ) штамма «КМИЭВ-V104» вируса НБ с биологической активностью  $10^{9,0}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> и стерильный вирусосодержащий материал (экстраэмбриональную жидкость) SPF-развивающихся эмбрионов кур (РКЭ) штамма «КМИЭВ-V142» вируса НБ с биологической активностью  $10^{6,0}$  ЭИД<sub>50/мл</sub>.

Стерильный вирусосодержащий материал с биологической активностью штамма «КМИЭВ-V104» вируса НБ  $10^{9,2}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> и биологической активностью штамма «КМИЭВ-V142» вируса НБ  $10^{6,5}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> смешивали в соотношении 1:1 и использовали для инактивации. Для этого в суспензию вируса (температура плюс 37 °С) добавляли 10%-ный раствор формалина до конечной концентрации 0,1 %. Химическую инактивацию вируса НБ проводили в течение 24 ч при pH 7,4–7,6 и температуре плюс (37,0±0,5) °С с периодическим перемешиванием суспензии (3 мин через каж-

дые 2 ч). По окончании инактивации проводили удаление формалина путем добавления 2М раствора тиосульфата натрия до конечной концентрации 0,01М (0,25 %).

Для определения оптимального соотношения состава антигена и адьюванта, который обеспечит в организме птицы выработку специфических антител к вирусу болезни Ньюкасла, проводили смешивание инактивированной суспензии вируса и масляного адьюванта Montanide ISA 70:

- формализованный антиген смешивали с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 30:70 по весу;

- формализованный антиген смешивали с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 40:60 по весу;

- формализованный антиген смешивали с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 50:50 по весу.

Смесь эмульгировали на магнитной мешалке в течение 5 мин до получения однородной эмульсии.

Для иммунизации было сформировано 4 группы цыплят 20-суточного возраста по 10 голов в каждой.

Цыплят 1-й группы иммунизировали подкожно в нижнюю треть шеи формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 30:70 по весу.

Цыплят 2-й группы иммунизировали подкожно в нижнюю треть шеи формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 40:60 по весу.

Цыплят 3-й группы иммунизировали подкожно в нижнюю треть шеи формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 50:50 по весу.

Цыплята 4-й группы служили контролем.

На протяжении всего периода испытаний за птицей велось клиническое наблюдение. Содержание специфических антител против НБ определяли у птиц до (фон) и через 21 день после вакцинации. Пробы сыворотки исследовали в РТГА на наличие антител к вирусу НБ.

Испытания опытной партии вакцины инактивированной для профилактики НБ у домашних птиц и голубей с рабочим названием «КОЛНЬЮВАК ПЛЮС» проводили

на голубях в октябре-ноябре 2022 г. в Центре экологического туризма (ЦЭТ) «Станково» с целью получения достоверных данных о безопасности и эффективности вакцины для последующей её регистрации в Республике Беларусь. Производственные испытания ветеринарного препарата проводились согласно принятым технологическим условиям кормления и содержания голубей, а также схемам ветеринарных мероприятий. Для проведения исследований было использовано 50 голубей (возраст старше 90 дней). Перед применением вакцину выдерживали в течение часа при температуре 20–25 °С. Объединенную пробу из опытной партии вакцины объемом 0,2 см<sup>3</sup> вводили с соблюдением правил асептики внутримышечно в область грудной мышцы 50 клинически здоровым голубям.

Для испытания эффективности опытной партии вакцины в условиях вивария были сформированы 2 группы суточных кур по 25 голов в группе. Из объединенной пробы опытной партии вакцины вводили по 0,3 см<sup>3</sup> внутримышечно в область грудной мышцы 25 клинически здоровым курам (опытная группа). Контрольную группу (25 кур) не вакцинировали. Наблюдение за общим состоянием птиц контрольной и опытной групп вели в течение последующих 28 суток. Затем у цыплят обеих групп брали кровь из подкрыльцовой вены и получали сыворотку. В сыворотке крови определяли антитела к вирусу болезни Ньюкасла в РТГА.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При определении оптимального соотношения состава антигена и адьюванта получены результаты, представленные в таблице 1. Так, уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против ньюкаслской болезни после вакцинации формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 30:70, повысился на 4,6 log<sub>2</sub>, после вакцинации формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 40:60, – на 4,2 log<sub>2</sub>, а после вакцинации формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 50:50, – на 3,4 log<sub>2</sub>.

На основании вышеизложенного опытную партию эмульгированной вакцины готовили путем смешивания инактивированной суспензии вируса и масляного

адьюванта Montanide ISA 70 в соотношении 30:70. Смесь эмульгировали на магнитной мешалке в течение 5 мин до получения однородной эмульсии.

Таблица 1. – Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против ньюкаслской болезни птиц при различных соотношениях адьюванта и антигена

Группы птиц	Титр антител к НБ (в РТГА), $\log_2$	
	фон (до вакцинации)	через 21 день после вакцинации
1-я группа (формализированный антиген, смешанный с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 30:70 по весу)	2,2±0,3	6,8±0,2
2-я группа (формализированный антиген, смешанный с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 40:60 по весу)		6,4±0,1
3-я группа (формализированный антиген, смешанный с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 50:50 по весу)		5,6±0,4
4-я группа (контроль)		1,8±0,2

При проведении производственных испытаний наблюдение за общим состоянием птиц контрольной и опытной групп проводили в течение последующих 28 суток. Затем брали кровь из подкрыльцовой вены голубей, получали сыворотку и определя-

ли содержание специфических антител против болезни Ньюкасла в сыворотке крови в РТГА (по 25 проб). Данные серологических исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2. – Уровень специфических антител в сыворотке крови голубей против ньюкаслской болезни птиц

Группы птиц	Титр антител к НБ (в РТГА), $\log_2$	
	фон (до вакцинации)	через 28 дней после вакцинации
1-я группа (опыт)	2,1±0,1	5,8±0,2

Серологические исследования показывают, что в группе вакцинированных голубей происходит нарастание титров антител к вирусу ньюкаслской болезни птиц на 3,7  $\log_2$  по сравнению с фоновым взятием крови, на основании чего можно сделать вывод об антигенной и иммунологической эффективности опытной партии вакцины.

За время наблюдения за птицей после вакцинации не отмечено поствакцинальных осложнений и изменений в клиническом статусе и поведении голубей, что свидетельствует о безвредности и ареактогенности вакцины. Данные серологических исследований при испытании эффективности опытной партии вакцины в условиях вивария приведены в таблице 3.

Таблица 3. – Уровень специфических антител в сыворотке крови цыплят против ньюкаслской болезни птиц

Группы птиц	Титр антител к НБ (в РТГА), $\log_2$	
	фон (до вакцинации)	через 21 день после вакцинации
1-я группа (опыт)	2,1±0,2	6,9±0,2
2-я группа (контроль)		2,2±0,1

Серологические исследования показывают нарастание в группе вакцинированных цыплят титров антител к вирусу НБ на 4,8  $\log_2$  по сравнению с фоновым взятием крови и на 4,7  $\log_2$  – по сравнению с контрольной группой. На основании этого можно сделать вывод об антигенной и иммунологической эффективности опытной партии вакцины.

За время наблюдения за птицей после вакцинации не отмечено поствакцинальных осложнений и изменений в клиническом статусе и поведении голубей, что свидетельствует о безвредности и ареактогенности вакцины.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При вакцинации птицы формализованным антигеном, смешанным с адьювантом Montanide ISA 70 в соотношении 30:70, наблюдается наибольшая выработка специфических антител к вирусу болезни Ньюкасла (6,8±0,2  $\log_2$  в РТГА).

2. Сконструированная и изготовленная опытная партия вакцины для профилак-

тики болезни Ньюкасла у домашних птиц и голубей состоит из инактивированных формалином вирусов болезни Ньюкасла (штаммы «КМИЭВ-V104» и «КМИЭВ-V142») и масляного адьюванта Montanide ISA 70.

3. При проведении производственных испытаний в группе вакцинированных голубей происходит нарастание титров антител к вирусу НБ птиц на 3,7  $\log_2$  по сравнению с фоновым взятием крови, что свидетельствует об антигенной и иммунологической эффективности опытной партии вакцины.

4. При проведении испытаний вакцины в условиях вивария в группе вакцинированных птиц происходит нарастание титров антител к вирусу НБ птиц на 4,8  $\log_2$  по сравнению с фоновым взятием крови и на 4,7  $\log_2$  по сравнению с контрольной группой, на основании чего можно сделать вывод об антигенной и иммунологической эффективности опытной партии вакцины.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ельников, В. В. Диагностика и вакцинопрофилактика ньюкаслской болезни птиц / В. В. Ельников // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2010. – № 11. – С. 32–33.
2. Зотова, З. В. Проблема ньюкаслской болезни голубей и пути ее решения / З. В. Зотова, Н. В. Пименов. – 2011. – № 5. – С. 35–36.
3. Мезенцев, С. В. Профилактика инфекционных болезней птиц / С. В. Мезенцев, И. Г. Телягин // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2010. – № 11. – С. 70–73.
4. Alexander, D. J. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research / D. J. Alexander, E. W. Aldous, C. M. Fuller // *Avian Pathology*. – 2012. – Vol. 41. – P. 329–335.