

УДК 619:616.98:578.831.3:636.5

Сидорова А.О., старший научный сотрудник
Насонов И.В., доктор ветеринарных наук, профессор

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск,
Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ ВАКЦИНЫ «АВИПНЕВМ»

Резюме

В статье представлены результаты испытаний антигенной активности опытных образцов вакцины для профилактики метапневмовирусной инфекции птиц. Опытные образцы изготавливали на культуре клеток Vero и на СПФ-эмбрионах.

Ключевые слова: метапневмовирусы, птицы, ИФА, антитела, иммунитет, культура клеток Vero, СПФ-эмбрионы.

Summary

This article presents the results of antigen testing of experimental vaccine samples for the prevention of avian metapneumovirus infection. The samples were produced using Vero cell culture and SPF embryos.

Keywords: birds, metapneumoviruses, ELISA test, antibodies, immunity, Vero cells, spf-embryos.

Поступила в редакцию 28.04.2026 г.

ВВЕДЕНИЕ

Метапневмовирусная инфекция (МПВИ) – заболевание кур, фазанов, уток и индеек, характеризующееся воспалительными процессами дыхательных органов. У индеек заболевание протекает в виде ринотрахеита (Turkey Rhino Tracheitis – TRT), воспаления носовых ходов, синусов и трахеи и сопровождается затрудненным дыханием, чиханием, хрипами, назальными выделениями; у кур и цыплят поражаются верхние дыхательные пути, а при осложнениях проявляется синдром распухшей головы (Swollen head syndrome – SHS), при котором воспаляются инфраорбитальные синусы [2].

Новая болезнь кур, которая проявлялась поражением верхних дыхательных путей у разновозрастного молодняка, впервые была обнаружена более 40 лет назад в Южной Африке. Признаки были очень похожи на проявление ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного бронхита кур (ИБК), инфекционного ларинготрахеита птиц и других болезней, протекающих с поражением органов дыхания [5]. В дальнейшем было выявлено, что данная инфекция вызвана

РНК-содержащим вирусом, который относится к семейству *Pneumoviridae* (с 2016 г. выделено из ранее единого семейства *Paramyxoviridae*), род *Metapneumovirus*, вид *Avian Metapneumovirus* (aMPV) [8]. МПВИ подвержены птицы в любом возрасте, однако у бройлеров болезнь чаще проявляется в возрасте 2–6 недель, а у кур-несушек и племенной птицы – в начале яйцекладки [3]. С возрастом восприимчивость к вирусу снижается [4].

Возбудитель МПВИ оказывает иммунодепрессивное действие, снижая общую резистентность организма и тем самым повышая ее чувствительность к таким патологиям, как гепатит, перикардит, гидроперикардит (скопление большого количества жидкости в перикарде), пневмония, аэросаккулит, опухание скакательных суставов. Конгломерации с различными микроорганизмами отягощают клиническое проявление болезни, постановку диагноза и меры ликвидации [2].

Репликация метапневмовируса в организме птицы происходит в эпителии дыхательных путей и в эпителиальных клетках яйцевода. Поэтому в начале заболева-

ния метапневмовирус вызывает лишь респираторные симптомы, а затем происходит инволюция яичников и яйцеводов, сопровождающаяся значительным снижением яйценоскости (до 30 %) [7].

Метапневмовирус подразделяется на 4 подтипа в зависимости от последовательности аминокислот: А, В, С, D. Подтипы А и В чаще обнаруживались в Европе, Азии, Южной и Северной Америке, С и D выделялись от бройлеров и индеек в США. Для соседних с Республикой Беларусь стран данное заболевание является новым, первые вспышки были выявлены только в последние десятилетия. Зарегистрированы случаи в Украине [6, 7] и России, где установлена способность МПВ птиц к длительной персистенции среди птицепоголовья отдельных хозяйств. В Республике Беларусь вспышек метапневмовирусной инфекции не выявлено, но большинство птицеводческих предприятий проводят профилактическую вакцинацию импортными вакцинами. Оптимальным является проведение вакцинации в первые сутки жизни цыплят. Несушек вакцинируют дважды, а бройлеров – однократно [1].

Единственным способом предотвращения массовой заболеваемости птиц является соблюдение ветеринарно-санитарных норм и проведение вакцинаций с первых дней жизни цыплят. В настоящее время разработаны как живые аттенуированные, так и инактивированные вакцины. Создание отечественной вакцины для профилактики метапневмовирусной инфекции птиц в значительной степени сократит затраты на иммунизацию и будет способствовать укреплению биологической безопасности страны.

Целью нашей работы являлось сравнительное испытание антигенной активности опытных образцов вакцины «Ави-пневм», полученных при культивировании вируса «КМИЭВ-V147» на СПФ-эмбрионах кур и культуре клеток Vero.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась на базе отдела болезней птиц и пчел РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». В процессе конструирования опытных образцов вакцины для профилактики метапневмовирусной инфекции птиц был использован производственный вак-

цинный штамм «КМИЭВ-V147» метапневмовируса с биологической активностью не ниже $3,25 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, депонированный в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Накопление вирусологической массы проводили на культуре клеток Vero и СПФ-куриных эмбрионах. Перевиваемую культуру клеток Vero 48 ч культивирования со 100%-ным монослоем после удаления ростовой среды, дважды промывали раствором Хенкса с антибиотиками (пенициллин 100 ЕД/см^3 и стрептомицин 50 мкг/см^3), инфицировали штаммом метапневмовируса «КМИЭВ-V147» с множественностью заражения $0,1 \text{ ТЦД/кл.}$ и выдерживали при температуре $37,5^\circ\text{C}$ в течение 1 ч для контакта вируса с клеткой. В качестве поддерживающей среды для перевиваемой культуры клеток Vero использовали среду DMEM с добавлением 2 % ЭТС. Зараженную культуру инкубировали при температуре $37,5^\circ\text{C}$. Для контроля культуры клеток оставляли незараженными 4 матраса, ростовую питательную среду в которых после 2-кратного промывания монослоя раствором Хенкса с антибиотиками (пенициллин 100 ЕД/см^3 и стрептомицин 50 мкг/см^3) заменяли на поддерживающую. Контрольные матрасы инкубировали в одинаковых условиях с инфицированными. Проводили ежедневную микроскопию. Размножение вируса в перевиваемой культуре клеток Vero определяли по характерному ЦПД (образование округлых клеток в монослое, синцития и разрушение монослоя). Опытные матрасы замораживали при температуре минус 20°C , затем размораживали при комнатной температуре, осветляли низкоскоростным центрифугированием при $600g$ в течение 20 мин, рН суспензии доводили до 7,4–7,6. Из общей пробы отбирали 10 см^3 для определения биологической активности вируса, контроля стерильности. Испытания на стерильность проводили на МПА, МПБ, агар Сабуру. Титрацию метапневмовируса проводили в 96-луночных планшетах с культуральным монослоем Vero. Ежедневно в течение 5–7 суток проводили учет цитопатогенного действия, выражая его по 4-крестовой системе. Величину титра вычисляли по методу L.J. Reed & H. Muench и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}$ в $1,0 \text{ см}^3$ (тканевая цитопатогенная доза).

Для культивирования на СПФ-куриных эмбрионах использовали эмбрионы 9-дневного возраста инкубации. Заражали 10-кратными (10^{-1} – 10^{-8}) разведениями штамма «КМИЭВ-V147» метапневмовируса птиц. Для обеспечения нормального развития зародышей в оплодотворенных яйцах в период инкубации соблюдали определенную температуру и влажность. Яйца находились в специальном инкубаторе при температуре 37 °С, а влажность составляла 70 %. Эмбрионы ставили в специальные штативы воздушной камерой вверх.

В начале исследования все эмбрионы овоскопировали и отмечали простым карандашом границу воздушного пространства. Для заражения пригодны только живые эмбрионы. Для этого на овоскопе проверяли наполненность кровеносных сосудов хорионаллантоисной оболочки. Применяли метод заражения на хорионаллантоисную оболочку. Перед заражением область воздушной камеры протирали 70%-ным спиртом с помощью ватного тампона, затем фламбировали факелом. При помощи пробойника делали небольшое отверстие в центре пуги. Это отверстие и являлось местом введения вирусосодержащего материала. С помощью шприца с тупой иглой вводили вирусосодержащий материал в дозе 0,2 мл. После введения отверстие заливали стерильным парафином. Для контроля использовали 10 СПФ-эмбрионов, которым вводили стерильный физиологический раствор по аналогичной методике. После заражения эмбрионы инкубировали в течение 7 суток и ежедневно овоскопировали. Эмбрионы, погибшие в течение 48 ч, выбраковывали, остальные по истечении срока инкубации охлаждали при температуре 2–8 °С и вскрывали. От каждого эмбриона отбирали экстраэмбриональную жидкость. Контроль стерильности проводили посевами на МПА, МПБ, Сабуро. На каждую среду использовали по 4 пробирки и 2 в качестве контроля. По истечении указанных сроков инкубации проводили титрацию на культуре клеток Vero в 96-луночных планшетах, заражая их 10-кратными (10^{-1} – 10^{-8}) разведениями вируса, используя по 4 лунки на каждое разведение.

Для испытания антигенной активности опытных образцов вакцины «Ави-

пневм» в условиях вивария были сформированы 3 группы суточных цыплят, по 10 в группе. Объединенную пробу опытных образцов вакцины, полученной на культуре клеток Vero, интраокулярно вводили в иммунизирующей дозе (100 ТЦД₅₀ в объеме 0,03 мл) 10 клинически здоровым цыплятам (1-я опытная группа). Объединенную пробу опытных образцов вакцины из отобранной эмбриональной жидкости интраокулярно вводили в иммунизирующей дозе (100 ТЦД₅₀ в объеме 0,03 мл) 10 клинически здоровым цыплятам (2-я опытная группа). Контрольную группу (10 цыплят) иммунизировали интраокулярно (100 ТЦД₅₀ в объеме 0,03 мл) вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия. Наблюдение за общим состоянием птиц контрольной и опытных групп проводили в течение последующих 21 суток. Затем у цыплят обеих групп брали кровь из подкрыльцовой вены и получали сыворотку. В сыворотке крови определяли анти тела методом ИФА набором IDEXX 06-44300-08 для метапневмовирусной инфекции птиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При посевах опытных образцов вакцины «Ави-пневм» на питательные среды (МПА, МПБ, агар Сабуро) роста бактериальной и грибной микрофлоры не выявлено в течение всего срока наблюдения. Полученные опытные образцы также проверяли на контаминацию микоплазмами путем посева на полужидкий агар. Роста микоплазм не наблюдалось. Контаминация чужеродными вирусами не выявлена, так как патологоанатомические изменения у эмбрионов отсутствовали, а капельная РГА была отрицательной.

При испытании опытных образцов вакцины на безвредность наблюдение вели в течение 14 дней. За время наблюдения отклонений в поведении и клиническом состоянии цыплят не выявлено.

Результаты определения титров антител в сыворотках крови опытных и контрольной групп методом ИФА через 21 день после иммунизации с целью определения антигенных свойств вакцин представлены в таблице.

Таблица – Титры антител к вирусу метапневмовирусной инфекции птиц в ИФА

№ п/п	Титр после заражения MPV на клетках	Титр после заражения MPV на эмбрионах	Контроль
1	1968	1684	1735
2	2045	1624	1603
3	1600	1611	1659
4	2447	1667	1705
5	2963	1613	1611
6	1932	1675	1756
7	2029	1635	1610
8	1556	1632	1645
9	2556	1688	1710
10	2980	1607	1633
среднее	2207,6±509*	1643,6±31	1666,7±56

*Примечание – *различия достоверны по сравнению с контролем*

Положительной иммунная реакция считается при титрах больше 396. Согласно данным таблицы, в опытной группе цыплят, иммунизированных вакциной, полученной на культуре клеток Vero, титры антител были достоверно более высокими, чем в контрольной группе, иммунизированной вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия (2207,6±509 в опытной группе и 1666,7±56 в контрольной группе). В опытной группе цыплят, иммунизированных вакциной, полученной из экстраэмбриональной жидкости СПФ-эмбрионов, титры антител достоверно не отличались от контрольной группы, иммунизированной вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия.

Полученные результаты подтверждают данные большинства исследователей о том, что вакцина живая против пневмовирусной инфекции птиц, полученная на культуре клеток Vero, обладает более высокой антигенной активностью, чем вакцина, полученная из экстраэмбриональной жидкости СПФ-эмбрионов. Однако технология изготовления вакцин на культуре клеток Vero является достаточно трудоемкой по сравнению с изготовлением вакцин на СПФ-эмбрионах, а достоверных разли-

чий между полученными результатами титров вакцины «Авипневм», изготовленной на экстраэмбриональной жидкости, и вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия, изготовленной на культуре клеток Vero, не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опытные образцы вакцины живой против метапневмовирусной инфекции птиц из штамма «КМИЭВ-V147» метапневмовируса птиц «Авипневм» являются стерильными и безвредными для цыплят.

В опытной группе цыплят, иммунизированных вакциной, полученной на культуре клеток Vero, титры антител были достоверно более высокими, чем в контрольной группе, иммунизированной вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия.

В опытной группе цыплят, иммунизированных вакциной, полученной из экстраэмбриональной жидкости СПФ-эмбрионов, титры антител достоверно не отличались от контрольной группы, иммунизированной вакциной живой сухой против пневмовирусной инфекции птиц производства ВНИИЗЖ, Россия.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Борисова, И. А. Метаневмовирусная инфекция птиц / И. А. Борисова, А. В. Борисов // *РацВетИнформ*. – 2009. – № 12. – С. 9–11.
2. Бочкарев, В. С. Иммунобиологические свойства вакцинных штаммов метаневмовируса птиц : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Бочкарев Владимир Сергеевич. – СПб., 2013. – 21 с.
3. Волкова, М. А. Биологические свойства изолята метаневмовируса птиц AMPV/B/12/2010 / М. А. Волкова, И. В. Бахчин // *Вестник ветеринарии*. – 2014. – № 2 (69). – С. 21–26.
4. Данко, Л. Ю. Культуральные и антигенные свойства метаневмовируса птиц : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Данко Леонид Юрьевич. – СПб., 2011. – 21 с.
5. Панкратов, С. В. Метаневмовирусная инфекция птиц / С. В. Панкратов, С. Р. Абгарян // *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. – 2022. – № 3. – С. 36–39.
6. Радюш, И. С. Метаневмовирусная инфекция птиц (обзор) / И. С. Радюш, И. В. Насонов // *Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария*. – 2016. – № 3. – С. 16–20.
7. Старов, С. К. Пневмовирусная инфекция птиц и ее диагностика / С. К. Старов // *Россветинфо*. – 2007. – № 1. – С. 13–14.
8. Трефилов, Б. Б. Пневмовирусная инфекция птиц (эпизоотология, диагностика) / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина, Н. В. Денисов // *Актуальные проблемы ветеринарной медицины : материалы науч.-практ. конф., 24–25 августа 2007 г.* – СПб., 2007. – С. 210–211.

ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ

ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА И ОВЕЦ

ПОЛИКОКС

содержит
диклазурил, фумаровую кислоту

противококцидиозное
средство

применяют в целях лечения и профилактики
протозойных болезней, вызванных
эймериями и криптоспоридиями



WWW.BIEVM.BY

НОВИНКА!



не вызывает
осложнений
и побочных
эффектов

