

Испытание новых адъювантов SEPPIC для изготовления вакцин против гемофилеза птиц

Т. Н. Рождественская

доктор ветеринарных наук, директор по науке, Научно-производственное предприятие «АВИВАК»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;
заведующая лабораторией болезней птиц, Федеральный научный центр –
Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН,
Москва, Российская Федерация
E-mail: admin@viev.ru

С. В. Панкратов

кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по качеству,
Научно-производственное предприятие «АВИВАК»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: avivac@list.ru

Е. В. Сапегина

врач-серолог, заместитель директора диагностического центра,
Научно-производственное предприятие «АВИВАК»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: avivac@list.ru

Е. В. Томина

начальник отдела контроля качества, Научно-производственное предприятие «АВИВАК»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: avivac@list.ru

Аннотация

В данной статье представлены результаты испытания вакцин против гемофилеза птиц, изготовленных на основе инактивированных антигенов *Avibacterium paragallinarum* серотипов «А», «В» и «С» с использованием ГОА адъюванта и масляного адъюванта Montanide ISA 71 R VG (производства компании SEPPIC, Франция).

Актуальность данной работы продиктована необходимостью изыскания наиболее иммуногенных и наименее реактогенных адъювантов для инактивированных вакцин против гемофилеза птиц. Успешная профилактика инфекционных болезней должна быть основана на комплексном подходе и предусматривать не только выполнение ветеринарно-санитарных мероприятий, полное соблюдение технологий выращивания птицы и использование эффективных терапевтических препаратов, но и применение современных и безопасных средств специфической профилактики (вакцинопрофилактики).

Изложенные в статье результаты испытаний показали, что образцы инактивированной вакцины против гемофилеза птиц, изготовленные с использованием ГОА адъюванта и адъюванта Montanide ISA-71 R VG полностью соответствуют по основным критериям качества препаратам подобного класса – не обладают реактогенностью и обладают достаточными протективными свойствами для защиты птиц от заражения полевыми возбудителями гемофилеза.

Ключевые слова: *Avibacterium paragallinarum*, гемофилез птиц, бактериальные болезни, микст инфекция, адъюванты, инактивированные вакцины, вакцинопрофилактика, реактогенность, протективные свойства.

Testing new SEPPIC adjuvants for the production of vaccines against avian hemophilosis

Rozhdestvenskaya T. N.,

Doctor of Veterinary Sciences, Director for Science,
Scientific-Production Enterprise "AVIVAC",
Saint-Petersburg, Russian Federation

Head of the Laboratory of Bird Diseases. Federal Scientific Center –
All-Russian Scientific Research Institute of Experimental
Veterinary Medicine named after K. I. Scriabin and
Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation
E-mail: admin@viev.ru

Pankratov S. V.

Candidate of Veterinary Sciences, Deputy Director for Quality,
Scientific-Production Enterprise "AVIVAC",
Saint-Petersburg, Russian Federation
E-mail: avivac@list.ru

Sapegina E. V.

Serologist, Deputy Director of Diagnostic Center,
Scientific-Production Enterprise "AVIVAC",
Saint-Petersburg, Russian Federation
E-mail: avivac@list.ru

Tomina E.V.

Head of Quality Control Department, Scientific-
Production Enterprise "AVIVAC"
Saint-Petersburg, Russian Federation
E-mail: avivac@list.ru

Abstract

This article presents the results of testing vaccines against avian hemophilia based on inactivated antigens of *Avibacterium paragallinarum* serotypes "A", "B" and "C" using GOA adjuvant and Montanide ISA 71 R VG oil adjuvant (manufactured by SEPPIC, France).

The relevance of this work is dictated by the need to research the most immunogenic and less reactogenic adjuvants for inactivated vaccines against avian hemophilia. Successful prevention of infectious diseases should be based on an integrated approach and provide not only for the implementation of veterinary and sanitary measures, full compliance with poultry growing technologies and the use of effective therapeutic drugs, but also for the use of modern and safe means of specific prophylaxis (vaccine prophylaxis).

The test results presented in the article showed that samples of the inactivated vaccine against avian hemophilia made with the use of GOA adjuvant and Montanide ISA-71 R VG adjuvant completely correspond to the main quality criteria of preparation of this class – having no reactogenicity and have sufficient protective properties to protect birds from infection with field pathogens of hemophilia.

Keywords: *Avibacterium paragallinarum*, avian hemophilia, bacterial diseases, mixed infection, adjuvants, inactivated vaccines, vaccine prophylaxis, reactogenicity, protective properties.

Введение. Отрасль промышленного птицеводства в Российской Федерации динамично развивается благодаря внедрению в птицеводческих хозяйствах современных интенсивных технологий. Переход птицефабрик на новые высокопродуктивные кроссы кур, в свою очередь позволяет успешно решить одну из главных задач птицеводства – удержание на высоком уровне показателей сохранности и продуктивности поголовья птиц при одновременной оптимизации производственных затрат. Безусловно, при этом в приоритете всегда остается обеспечение здоровья птицы.

Особенностью современных промышленных птицеводческих предприятий является высокая концентрация поголовья на ограниченных территориях, где происходит выращивание высокопродуктивных кроссов. При этом общеизвестно, что птицы высокопродуктивных кроссов и линий более зависимы от условий содержания и кормления, обладают повышенной чувствительностью к возбудителям инфекционных болезней. Несоблюдение оптимальных зоотехнических и ветеринарно-санитарных условий содержания птиц неизбежно приводит к накоплению патогенной и условно патогенной микрофлоры в воздухе и на объектах птичника, снижению уровня нормальной микрофлоры и естественной резистентности организма, и поэтому – к быстрому распространению различных заболеваний птицы, в первую очередь бактериальной этиологии [1, 4].

При этом все чаще ветеринарные специалисты сталкиваются с проявлением микст инфекций, изменением вирулентных свойств возбудителей, что значительно затрудняет правильную и своевременную постановку диагноза. Бесспорно, противоэпизоотические мероприятия в борьбе с бактериальными болезнями птиц должны быть основаны на комплексном подходе и предусматривать не только выполнение ветеринарно-санитарных правил и использование эффективных терапевтических препаратов, но и применение специфической профилактики инфекций (вакцинопрофилактика) [2, 3, 5].

До недавнего времени эффективные вакцины против бактериальных болезней разработаны не были. Исключением является лишь инактивированная сорбированная вакцина против пастерелллёза птиц, изготовленная на основе адъюванта геля гидроксида алюминия (ГОА).

В последние десятилетия были проведены опытно-конструкторские работы, направленные на создание промышленных технологий изготовления инактивированных вакцин против ряда бактериальных болезней птиц с использованием инновационных масляных адъювантов, которые широко и успешно применяют в птицеводствах России и за рубежом [2, 3].

Наряду с эффективностью инактивированных вакцин, изготовленных на основе масляных адъювантов, обеспечивающих более высокий и длительный иммунитет, существует проблема с их остаточной реактогенностью, которую можно решить с помощью подбора более безопасных масляных адъювантов нового поколения.

Подбор и применение новых адъювантов позволяет включать в состав вакцин большее количество антигенных компонентов и индуцировать более высокий иммунный ответ сразу против нескольких возбудителей, максимально минимизируя при этом остаточные реактогенные последствия. Получение новых эффективных вакцин, обладающих минимальной реактогенностью, на основе современных адъювантов является основной целью данного исследования и в перспективе ведет к сохранению и улучшению здоровья птицы.

Цель исследований. Изучить физические и биологические свойства образцов инактивированных вакцин против гемофилеза птиц, изготовленных на основе инактивированных антигенов *Avibacterium paragallinarum* серотипов «А», «В» и «С» с использованием ГОА адъюванта и масляного адъюванта Montanide ISA 71 R VG (производства компании SEPPIC, Франция) для определения наиболее иммуногенного и наименее реактогенного образца вакцины.

Материалы и методы. Для получения бактериальных антигенов использовали следующие штаммы:

- В-7770 *Avibacterium paragallinarum* – серотипа «А»;
- «1130917/ АтшВ» *Avibacterium paragallinarum* – серотипа «В»;
- 150215/ТулаС2 *Avibacterium paragallinarum* – серотипа «С».

Инактивацию *A. Paragallinarum* серотипов «А», «В» и «С» проводили формальдеги-

дом. Было изготовлено 2 образца полиштамменных инактивированных вакцин против гемофилеза птиц, содержащих в одной иммунизирующей дозе ($0,5 \text{ см}^2$) по 1 млрд микробных клеток каждого серотипа «А», «В» и «С» *A. Paragallinarum*:

- образец № 1 – на основе адьюванта ГАО;
- образец № 2 – на основе адьюванта Montanide ISA 71 R VG.

Образцы вакцин были проверены на стерильность. Образец № 2 дополнительно был проверен на стабильность и вязкость эмульсии согласно общепринятым методам.

Определение реактогенности и иммуногенной активности вакцин проводили на молодняке кур яичного направления 56-суточного возраста, полученных из хозяйства, благополучного по инфекционным заболеваниям.

Для определения реактогенности вакцин было сформировано 2 группы птиц по 5 голов в каждой. Вакцину на основе ГОА адьюванта вводили птице первой группы внутримышечно в грудную мышцу в объеме $1,0 \text{ см}^3$, а вакцину, изготовленную на основе адьюванта Montanide ISA 71 R VG, вводили подкожно в область средней трети шеи также в объеме $1,0 \text{ см}^3$.

Учет реактогенности проводили на протяжении 15 дн. после вакцинации путем наблюдения за общим клиническим состоянием птицы и оценки реакции тканей на месте введения вакцины (наличие при пальпации припухлости и болезненности).

Для определения иммуногенной активности было сформировано 4 группы птиц. Две опытные группы (№ 1 и № 2) по 10 голов и две контрольные группы (№ 3 и № 4) по 5 голов. Птиц опытных групп прививали соответствующим образцом вакцины аналогичными методами, как и при определении реактогенности, только в объеме $0,5 \text{ см}^3$ (иммунизирующая доза). Птиц контрольных групп не вакцинировали.

По истечении 28 сут. цыплят опытных групп заражали смесью культур *A. Paragallinarum* серотипов «А», «В» и «С». Смесью культур вводили интраокулярно по $0,1 \text{ см}^3$ в каждый глаз в общем объеме $0,2 \text{ см}^3$, содержащем по 10 ИД₅₀ каждого серотипа *A. Paragallinarum*.

Одну контрольную группу цыплят заражали смесью культур *A. Paragallinarum* серотипов «А», «В» и «С» в тех же дозах и

идентичным методом, что и птиц опытных групп. Птиц другой контрольной группы не заражали – интактный контроль.

За птицами вели ежедневное наблюдение в течение 14 сут., определяя их клиническое состояние. Птиц с характерными клиническими признаками гемофилеза (отек лицевой части головы, подчелюстного пространства и сережек, припухание подглазничных синусов, слизистый/слизисто-фибринозный ринит, конъюнктивит, кератит) изолировали.

Результаты исследования. При проведении испытаний установлено, что вакцина, изготовленная на основе ГОА, представляла собой светло-серую суспензию с беловатым осадком, образующимся на дне флакона при хранении и легко разбивающимся при взбалтывании в гомогенную взвесь.

Инактивированная эмульсионная вакцина, изготовленная на основе адьюванта Montanide ISA 71 R VG, представляла собой однородную эмульсию белого цвета.

Оба образца вакцины были стерильными и полностью соответствовали критериям качества для класса подобных препаратов.

При учете реактогенности вакцин было отмечено, что птицы двух групп в течение 15 дн. (срок наблюдения) после иммунизации оставались клинически здоровыми. При пальпации области введения вакцин припухлости и болезненности у птиц отмечено не было.

Результаты определения иммуногенной активности вакцин представлены в таблице.

Как следует из таблицы, после заражения птиц контрольной группы смесью трех серотипов культур *A. Paragallinarum* у всех пяти голов были отмечены симптомы гемофилеза птиц, что свидетельствует о высокой восприимчивости невакцинированной птицы к *A. Paragallinarum* серотипам «А», «В» и «С».

При контрольном заражении птиц опытных групп спустя 28 сут. после вакцинации на протяжении 14 сут. (срок наблюдения) у птиц всех трех групп клинического проявления гемофилеза обнаружено не было, что указывает на хорошие протективные свойства образцов инактивированных вакцин против гемофилеза птиц, изготовленных на основе адьювантов ГОА и Montanide ISA-71 R VG (SEPPIC).

Заключение. Анализ изложенных результатов позволяет заключить, что образцы инактивированной вакцины против

Иммуногенная активность вакцин

Номер группы и адъювант для изготовления вакцины	Количество птиц в группе, гол.	Контрольное заражение				
		Культура <i>A. Paragalliparum</i> в дозе 10 ИД ₅₀			Количество птиц, гол.	
		Серотип «А»	Серотип «В»	Серотип «С»	клинически здоровых	с клиническим проявлением гемофилеза
Группа № 1 ГОА	10	+	+	+	10	0
Группа № 2 Montanide ISA 71 R VG	10	+	+	+	10	0
Контрольная группа № 3 (контрольное заражение)	5	+	+	+	0	5
Контрольная группа № 4 (интактный контроль)	5	–	–	–	5	0

гемофилеза птиц, изготовленные с использованием адъювантов ГОА и Montanide ISA-71 R VG, полностью соответствуют основным критериям качества препаратам подобного класса – не обладают реактогенностью, имеют достаточные протективные свойства для защиты птиц от заражения полевыми возбудителями гемофилеза.

Следует подчеркнуть перспективность использования адъюванта Montanide ISA 71 R VG в изготовлении противобактериальных вакцин, так как многочисленные клинические испытания вакцин показывают, что эмульсионные вакцины индуцируют более выраженный, напряженный и продолжительный иммунитет, нежели их сорбированные варианты.

Литература

1. Борисенкова А. Н. Проблема бактериальных болезней птиц на современном этапе развития промышленного птицеводства // *Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние и стратегия борьбы: м-лы науч.-практ. конф.* СПб, 2007. С. 198–202.
2. Венгеренко Л. А. Ветеринарно-санитарное обеспечение эпизоотического благополучия в птицеводствах Российской Федерации // *Ветеринария*, 2009. № 8. С. 3–6.
3. Толстых Н. А., Юшков Ю. Г., Городов В. С., Леонов С. В. Гемофилез птиц: диагностика и профилактика // *Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий: м-лы науч.-практ. конф. Горно-Алтайск*, 2017. С. 274–277.
4. Борисенкова А. Н. (2007) Problem of bacterial diseases of birds at the present stage of development of industrial poultry farming. *Proc. sci. conf. Diseases of birds in industrial poultry farming. Current state and strategy of struggle*. St. Petersburg, pp. 198–202.
5. Krokhin N. L., Teimurazov M. G. et al. (2018) Vaccine prophylaxis, one of the key links in the prevention of bird hemophilia. *Veterinary medicine and feeding*, no. 7, pp. 33–34.
4. Rozhdestvenskaya T. N., Kononenko E. V., Emel'yanova S. A., Yakovlev S. S. et al. (2016) Hemophilia of birds. *Poultry and poultry products*, no. 4, pp. 50–53.
2. Vengerenko L. A. (2009) Veterinary and sanitary provision of epizootic welfare in poultry farms of the Russian Federation. *Veterinary Medicine*, no. 8, pp. 3–6.
3. Tolstykh N. A., Yushkov Yu. G., Gorodov V. S., Leonov S. V. (2017) Hemophilosis of birds: diagnosis and prevention. *Proc. sci. conf. Actual problems of agriculture in mountainous areas*. Gorno-Altai, pp. 274–277.

References