

УДК 636.03



DOI: 10.32634/0869-8155-2022-360-6-52-60

Т.Н. Рождественская^{1,3},
Л. Каримова²,
С.В. Панкратов⁴,
А.В. Рузина^{1,3},
Е.В. Томина¹

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное предприятие «АВИВАК», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² SEPPIC, Франция,

³ Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук, Москва, Российская Федерация ⁴ Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Санкт-Петербург, Российская Федерация

✉ avivac@list.ru

Поступила в редакцию:
08.07.2022

Одобрена после рецензирования:
02.08.2022

Принята к публикации:
22.08.2022



DOI: 10.32634/0869-8155-2022-360-6-52-60

Tatyana N. Rozhdestvenskaya^{1,3},
Liliya Karimova²,
Sergei V. Pankratov⁴,
Anna V. Ruzina^{1,3},
Elena V. Tomina¹.

¹ Limited Liability Company "Scientific – Production Enterprise "AVIVAC", St. Petersburg, Russian Federation

² SEPPIC, France

³ Federal Scientific Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

⁴ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation

✉ avivac@list.ru

Received by the editorial office:
08.07.2022

Accepted in revised:
08.02.2022

Accepted for publication:
08.22.2022

Современные подходы в изготовлении инактивированных вакцин против пастереллеза птиц

РЕЗЮМЕ

Введение. Пастереллез одна из наиболее опасных инфекционных болезней птиц, наносящих существенный экономический ущерб промышленному птицеводству. Обычно пастереллез протекает в септической форме, вызывая высокую заболеваемость и смертность (60–80%), но в последнее время отмечается хроническая, субклиническая и ассоциированная форма проявления данной инфекции. Для профилактики пастереллеза птиц в мире широко используют инактивированные эмульсионные вакцины, которые обеспечивают высокий и длительный иммунитет. Однако, при использовании инактивированных вакцин, особенно бактериальных вариантов, существует проблема с их остаточной реактогенностью. Эту проблему можно решить с помощью подбора более безопасных адъювантов нового поколения. Цель работы — изучить физические, биологические свойства и определить оптимальный прививной объем и метод введения инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, изготовленных на различных адъювантах.

Материалы и методы. Для изготовления вакцин использовали инактивированную формальдегидом культуру *P. multocida* штамма «115» и ряд адъювантов (Montanide GEL-02 и масляные адъюванты Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA 78 VG). Образцы вакцин были проверены на стерильность, стабильность и вязкость общепринятыми методами. Определение реактогенности и антигенной активности вакцин проводили на молодняке кур яичного направления 30 сут. возраста.

Результат. Установлено, что наилучшим препаратом среди испытанных является образец вакцины, изготовленный на основе адъюванта Montanide ISA 70 VG с содержанием 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 0,3 см³. При оценке реактогенности было очевидно, что все образцы в независимости от вида адъюванта, более выраженные остаточные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу, нежели, чем при подкожном введении в область средней трети шеи.

Ключевые слова: Пастереллез птиц, инактивированные вакцины, адъювант, реактогенность, и антигенная активность, *P. multocida*.

Для цитирования: Рождественская Т.Н., Каримова Л., Панкратов С.В., Рузина А.В., Томина Е.В. Современные подходы в изготовлении инактивированных вакцин против пастереллеза птиц. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-360-6-52-60>

© Рождественская Т.Н., Каримова Л., Панкратов С.В., Рузина А.В., Томина Е.В.

Modern approaches to the production of inactivated vaccines against avian pasteurellosis

ABSTRACT

Introduction. Pasteurellosis is one of the most dangerous avian infectious diseases, causing significant economic damage to the industrial poultry production. Pasteurellosis usually occurs in septic form, and causes high morbidity and mortality (60–80%), but recently it has become chronic, subclinical and associated. Inactivated emulsion vaccines are used worldwide to prevent avian pasteurellosis and provide high and long-term immunity. However, there is a problem with residual reactogenicity of inactivated vaccines, particularly of the bacterial variants. This problem can be solved by using safer, next-generation adjuvants. The aim of the article is to study the physical and biological properties and determine the optimal inoculation volume and method of administration of inactivated vaccines against avian pasteurellosis, based on different adjuvants.

Materials and methods. Formaldehyde inactivated culture of *P. multocida* strain "115" and a number of adjuvants (Montanide GEL-02 and oil adjuvants Montanide ISA 70 VG and Montanide ISA 78 VG) were used for vaccine production. The vaccine samples were tested for sterility, stability and viscosity by conventional methods. Determination of reactogenicity and antigenic activity of the vaccines was carried out on young laying 30 days old chickens.

Results. The vaccine sample based on the adjuvant Montanide ISA 70 VG containing 1.5 billion *P. multocida* microbial cells in a single immunizing dose of 0.3 cm³ was found to be the best among the tested preparations. When assessing the reactogenicity, it was obvious that all samples, regardless of the type of adjuvant, showed more pronounced residual reactogenic properties when injected intramuscularly into the chest muscle than when injected subcutaneously into the middle third of the neck.

Key words: Avian pasteurellosis, inactivated vaccines, adjuvant, reactogenicity, antigenic activity, *P. multocida*.

For citation: Rozhdestvenskaya T.N., Karimova L., Pankratov S.V., Ruzina A.V., Tomina E.V. Modern approaches to the production of inactivated vaccines against avian pasteurellosis. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-360-6-52-60>

© Rozhdestvenskaya T.N., Karimova L., Pankratov S.V., Ruzina A.V., Tomina E.V.

Введение/Introduction

Пастереллез одна из наиболее опасных инфекционных болезней, наносящих существенный экономический ущерб промышленному птицеводству [1, 2]. Обычно пастереллез протекает в септической форме, вызывая высокую заболеваемость и смертность (60–80%) [3], но в последнее время мы все чаще сталкиваемся с хроническим [4], субклиническим и ассоциированным проявлением данной инфекции [5, 6]. После перебивания птица долгое время остается носителем и является источником возникновения заболевания, что осложняет проведение оздоровительных мероприятий [7].

Возбудителем пастереллеза птиц является *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) — грамотрицательная неподвижная палочка (0,2–0,4 x 0,6–2,5 мкм). *P. multocida*, характеризующая той или иной морфологической формой колоний, различаются по вирулентным, иммуногенным и антигенным свойствам. Исследования, проведенные во многих странах мира, свидетельствуют о значительной вариабельности вирулентных свойств *P. multocida*, разнообразии сероваров возбудителя, антигенности и токсичности их, что создает значительные сложности в рациональном применении средств неспецифической и специфической профилактики болезни [8–12]. Это, в свою очередь, создает предпосылки для создания новых эффективных препаратов специфической профилактики, которые являются ключевым инструментом в контроле инфекционных болезней [13–15].

P. multocida в S-форме (наиболее вирулентные) выделяют при остром течении пастереллеза, они имеют выраженную капсулу, которая содержит большое количество гиалуроновой кислоты [16]. При подостром и хроническом течении болезни выделяют менее вирулентные M-варианты, которые также имеют капсулу и R-варианты (диссоцианты, авирулентны) капсулы не имеют.

Капсула *P. multocida* содержит высокоактивные антигены, на основе которых (по Картеру), при помощи реакции непрямой гемагглютинации *P. multocida* разделяют на пять серологических групп. У птиц обнаружено 4 — A, B, D, и F [17, 18]. Помимо капсульного антигена, серотипирование осуществляют по соматическому O-антигену в пробирочной реакции агглютинации и реакции диффузионной преципитации. У птиц описаны 16 соматических серотипов [19, 20].

Для профилактики пастереллеза в мире используют живые и инактивированные вакцины. Иммунизация живыми вакцинами создает иммунитет в короткие сроки, однако они обладают некоторой реактогенностью, а при хроническом течении пастереллеза мало эффективны [21].

Инактивированные вакцины против пастереллеза птиц обычно содержат цельные микробные клетки, инактивированные формальдегидом и соединённые с адьювантами. При этом эмульсионные варианты инактивированных вакцин способны обеспечивать более выраженный и продолжительный гуморальный иммунитет, чем сорбированные вакцины, изготовленные на основе минерально-солевых адьювантов.

В последние десятилетия, было проведено большое количество разных опытно-конструкторских работ, направленных на создание промышленных технологий изготовления инактивированных вакцин [22, 23] с использованием масляных [24] и высокомолекулярных полимерных адьювантов [25].

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

Правильно подобранный адьювант позволяет производить безопасные, стабильные и воспроизводимые от партии к партии серии вакцины, которые легки в применении и экономически выгодны для потребителей.

В последние годы в различных странах для производства вакцин ветеринарного назначения широкое применение нашли адьюванты производства компании SEPPIC.

Вакцины на основе адьювантов SEPPIC считаются безопасными и в зависимости от необходимости могут обеспечивать быструю выработку антител и долгосрочную защиту, вызывая гуморальный или клеточный ответ.

Специально для вакцин, используемых в промышленном птицеводстве SEPPIC разработал линейку масляных адьювантов, образующих эмульсии вода в масле или двойные эмульсии вода в масле в воде, MONTANIDE™ ISA. Адьюванты Montanide ISA VG представляют собой смеси минерального и/или неминерального масла инъекционного качества и эмульгаторов, полученных, как правило, из маннита и очищенной олеиновой кислоты растительного происхождения.

Помимо масляных адьювантов SEPPIC также рекомендует использовать в вакцинах для птиц адьюванты линейки Montanide GEL, представляющие собой дисперсию высокостабильных гелевых частиц полиакрилата натрия в воде. С адьювантами Gel вакцины получают простым перемешиванием с живыми или инактивированными антигенами, при комнатной или пониженной температуре. При этом образуются весьма безопасные вакцины, которые помимо внутримышечного введения, могут также наноситься на слизистые оболочки птиц.

Исходя из выше изложенного, перспективным направлением является создание инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, обладающих высокой антигенной активностью и минимальной остаточной реактогенностью, что и стало целью наших испытаний.

Цели: изучить физические и биологические свойства инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, изготовленных на основе адьювантов SEPPIC для определения наиболее иммуногенного и наименее реактогенного образца вакцины, а также предельный оптимальный прививной объем и метод введения испытываемых инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, обеспечивающий наибольшие иммуногенные и наименее реактогенные свойства вакцин.

Материалы и методы/Materials and method

Для изготовления образцов инактивированных вакцин использовали инактивированную формальдегидом культуру *P. multocida* штамма «115» и ряд адьювантов (Montanide GEL-02 и масляные адьюванты Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA 78 VG) производства компании SEPPIC, согласно табл. 1.

Для изготовления образцов вакцин на основе Montanide ISA-70 VG и Montanide ISA-78 VG использовали высокосортный гомогенизатор IKA ULTRA-TURRAXT 25digital. Образец вакцины на основе Montanide GEL 02 PR готовили простым перемешиванием адьюванта и антигена, при помощи магнитной мешалки.

Все образцы вакцин были проверены на стерильность согласно общепринятым методам. Образцы с № 1 по № 4 дополнительно были проверены на стабильность и вязкость эмульсии.

Определение реактогенности и антигенной активности вакцин проводили на молодняке кур яичного направления 30 сут. возраста, полученных из хозяйства благополучного по инфекционным заболеваниям.

Для определения реактогенности вакцин, было сформировано восемь групп (группы № 1, 2... 8) птиц по 10 голов. Каждая группа птиц была иммунизирована определенным методом и образцом вакцины. Птицы 1-й и 2-й группы были вакцинированы, образцом вакцины № 1 в объеме 1,0 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 4-й и 5-й группы образцом № 3 в объеме 1,0 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 7-й и 8-й групп образцом № 5 в объеме 1,0 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 3-й и 6-й группы образцами № 2 и 4, соответственно, в объеме 0,6 см³ подкожно в область нижней трети шеи.

Учет реактогенности проводили через 10 дней, после иммунизаций для чего птиц подвергали этаназии и проводили их вскрытие с целью учета местной реакции тканей на месте введения вакцины.

Степень реактогенности образцов вакцин оценивали по четырех балльной шкале (от 1 до 4) в зависимости от наличия изменений и характера реакции тканей на месте введения вакцины:

- 1 балл. Вакцина ареактогенна — при вскрытии места введения вакцины под кожей в области нижней трети шеи и зоба возможно наличие остатков вакцины в виде вкраплений размером 0,05 мм или в толще грудной мышцы в виде тяжей 2,0–3,0 x 0,5–1,0 мм;

- 2 балла. Вакцина обладает остаточной реактогенностью — при вскрытии места введения вакцины, наряду с вышеописанными характеристиками, под кожей в области нижней трети шеи или в толще грудной мышцы, наблюдается инъекция сосудов и возможно локальное образование соединительной ткани;

- 3 балла. Вакцина обладает реактогенностью — при вскрытии места введения вакцины, наряду с вышеописанными характеристиками, под кожей в области нижней трети шеи или в толще грудной мышцы, наблюдается диффузное разрастание соединительной ткани;

- 4 балла. Вакцина обладает выраженной реактогенностью — при вскрытии места введения вакцины, наряду с вышеописанными характеристиками, под кожей в области нижней трети шеи или в толще грудной мышцы, наблюдается разрастание соединительной ткани, в толще которой находятся пластинки фибрина и/или вязкий мутный экссудат.

Для определения антигенной активности было сформировано 9 изолированных групп (группы № 11, 12–19) цыплят по 10 голов в каждой. Птиц с 11-й по 18-ю группу вакцинировали определенным методом и образцом вакцины. Птицы 11-й и 12-й группы были вакцинированы, образцом вакцины № 1 в объеме 0,5 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 14-й и 15-й группы образцом

Таблица 1. Компонентный состав образцов вакцин
Table 1. Component composition of vaccine samples

№ образца / Sample №	Наименование адьюванта / Adjuvant	Соотношение адьюванта и антигенной фракции / Adjuvant to antigenic (aqueous) fraction ratio	Иммунизирующая доза / Immunizing dose	
			объем, см ³ / volume, cm ³	к-во млрд м.к. <i>P. multocida</i> / q-ty of bln. m.c. <i>P. multocida</i>
1	Montanide ISA-70 VG	70/30	0,5	1,5
2	Montanide ISA-70 VG	70/30	0,3	1,5
3	Montanide ISA-78 VG	70/30	0,5	1,5
4	Montanide ISA-78 VG	70/30	0,3	1,5
5	Montanide GEL 02 PR	10/90	0,5	1,5

№ 3 в объеме 0,5 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 17-й и 18-й групп образцом № 5 в объеме 0,5 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутримышечно в грудную мышцу, соответственно; 13-й и 16-й группы образцами № 2 и 4, соответственно, в объеме 0,3 см³ подкожно в область нижней трети шеи.

Птиц девятнадцатой группы не вакцинировали — интактный контроль.

С целью определения специфических антител к *P. multocida* от птиц всех групп были получены сыворотки крови за сутки до и через 28 сут после вакцинации. Титр антител к *P. multocida* определяли иммуноферментным анализом (ИФА), с использованием тест-систем производства «IDEXX».

Исследование сывороток крови проводили одномоментно. До начала тестирования пробы хранили индивидуально в пробирках Эппендорфа, при температуре минус 18 °С.

Вакцину считали антигенно активной, если у 80% привитых цыплят средний титр антител к *P. multocida* при исследовании в ИФА в 2 и более раз превышал минимальный положительный показатель, предусмотренный в наставлении по применению конкретного диагностического набора (минимальный положительный титр к *P. multocida* используемого набора — 396).

Статистическую оценку результатов титра антител проводили по Лакину Г.Ф., 1990, путем измерения средней арифметической (X), ошибки средней арифметической (Sx), критерия Стьюдента (t-тест) и достоверности различий в группах (P) [26].

Результаты / Results and discussion

Полученные результаты испытаний образцов вакцин по определению внешнего вида, стерильности, относительной вязкости и стабильности эмульсии показали, что все образцы вакцин за исключением образца 5 представляли собой однородную эмульсию белого цвета, были стерильны и отвечали заданным параметрам по показателям вязкости и стабильности находясь в диапазоне 25–35 мм²/с и 2,0–3,0 мм, соответственно, и полностью отвечают требованиям классу подобных препаратов.

Образец вакцины 5 представлял собой стерильную однородную полупрозрачную жидкость в виде суспензии с относительной вязкостью 1 мм²/с также полностью отвечал допустимым параметрам препаратам подобного класса.

При определении реактогенности образцов было выявлено, что все образцы вакцин, как при введении

Таблица 2. Результаты антигенной активности образцов вакцин
Table 2. Results of antigenic activity of vaccine samples

№ группы птиц / Group no.	Вакцина / Vaccine			Среднегеометрический группой (GMean) титр антител к <i>P. multocida</i> в ИФА / Geometric mean group (GMean) titer of antibodies to <i>P. multocida</i> in ELISA	
	№ образца / sample №	наименование адъюванта / adjuvant	объем, см ³ и метод введения / dose, cm ³ and method of administration	за сутки до вакцинации / the day before vaccination	через 28 сут после вакцинации / 28 days after vaccination
11	1	ISA-70 VG	0,5 п/к шея / 0.5 SC neck	105	1936
12	1	ISA-70 VG	0,5 в/м грудь / 0.5 IM breast	88	727
13	2	ISA-70 VG	0,3 п/к шея / 0.3 SC neck	48	3452
14	3	ISA-78 VG	0,5 п/к шея / 0.5 SC neck	36	1242
15	3	ISA-78 VG	0,5 в/м грудь / 0.5 IM breast	48	1370
16	4	ISA-78 VG	0,3 п/к шея / 0.3 SC neck	28	2658
17	5	GEL 02 PR	0,5 п/к шея / 0.5 SC neck	7	690
18	5	GEL 02 PR	0,5 в/м грудь / 0.5 IM breast	0	242
19	Вакцинация не проводилась / Vaccination was not carried out			105	142

Примечание: GMean — среднее геометрическое значение титра антител в группе птиц / Note: GMean — geometric mean of antibody titer in a group of birds

подкожно в среднюю треть шеи, так и при введении внутримышечно в грудную мышцу были ареактогенны или обладали в той или иной степени остаточной реактогенностью. При этом следует отметить, что все образцы в независимости от вида адъюванта более выраженные остаточные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу нежели чем при подкожном введении в область средней трети шеи.

При сравнительной оценке реактогенных свойств образцов вакцин, введенных подкожно в среднюю треть шеи, более ареактогенной показала себя вакцина, изготовленная на основе адъюванта Montanide GEL-02 PR. Образцы вакцины, изготовленные на основе адъювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA-78 VG проявили себя в равной степени уступив образцу, изготовленному на адъюванте Montanide GEL-02 PR.

Проведенный анализ испытаний вакцин с целью определения оптимального прививного объема, показал, что образцы вакцин № 2 и 4 изготовленные на основе адъювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA-78 VG, соответственно, содержащие по 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 0,3 см³, в сравнении с образцами вакцин № 1 и № 3 изготовленных на аналогичных адъювантах, но содержащих по 1,5 млрд микробных клеток в одной иммунизирующей дозе объемом 0,5 см³, были ареактогенны или обладали в той или иной степени остаточной реактогенностью в одном диапазоне.

Результаты определения антигенной активности образцов вакцин представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, цыплята опытных и контрольных групп до иммунизации не имели специфических антител к *P. multocida*, на что указывают отрицательные значения GMean по группам.

При анализе результатов антигенной активности вакцины, изготовленной на основе адъюванта Montanide GEL-02 PR видно, что спустя 28 сут после ее применения, в группе птиц № 17, где вакцина вводилась подкожно в область средней трети шеи и в группе птиц № 18, где вакцину применяли внутримышечно в грудную

мышцу среднегрупповой титр антител (GMean) к *P. multocida* находится в низко положительных (690) и отрицательных (242) значениях, соответственно. Полученные результаты показывают, что по сравнению с другими опытными образцами вакцина, изготовленная на основе адъюванта Montanide GEL-02 PR обладает наименьшими антигенными свойствами.

Сравнительный анализ антигенной активности образцов вакцин № 1 и 3 при введении их разными методами показал не одинаковые результаты. Так при иммунизации птиц группы № 11 вакциной на основе Montanide ISA 70 VG (образец № 1) подкожно в среднюю треть шеи среднегрупповой титр антител к *P. multocida* спустя 28 сут после вакцинации у птиц составил 1936, а при иммунизации той же вакциной, в той же дозе птиц группы № 12 внутримышечно в грудную мышцу, средний титр антител к *P. multocida* в группе был определен в слабopоложительном значении — 727. Полученные данные указывает на проявление более выраженной антигенной активности образца вакцины № 1 при введении его подкожно в область средней трети шеи, нежели чем в грудную мышцу.

Однако при иммунизации птиц группы № 14 вакциной на основе Montanide ISA 78 VG (образец № 3) подкожно в среднюю треть шеи среднегрупповой титр антител к *P. multocida* спустя 28 сут после вакцинации у птиц составил 1242, а при иммунизации той же вакциной, в той же дозе птиц группы № 15 внутримышечно в грудную мышцу, значение GMean титра антител к *P. multocida* составило 1370. Полученные данные показывают, что образец вакцины № 3 проявляет свою антигенную активность, как при введении его подкожно в область шеи, так и при введении его в грудную мышцу, примерно в одном диапазоне.

При испытании антигенной активности образцов вакцин изготовленных на основе адъювантов Montanide ISA 70 VG (образец № 2) и Montanide ISA-78 VG (образец № 4), содержащих 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 0,3 см³, среднегрупповой титр антител к *P. multocida*

составил 3452 и 2658, соответственно, что несколько выше, чем при испытании образцов вакцин № 1 и 3 изготовленных на аналогичных адьювантах, но содержащих 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 0,5 см³, где титр антител к *P. multocida* составил 1936 и 1242, соответственно.

Также следует отметить, что образцы вакцин № 1 и 2 изготовленные на основе адьюванта Montanide ISA 70 VG, спустя 28 сут после применения, индуцировали у птиц выработку антител в титре в значение GMean 3452 и 1936, соответственно, что несколько выше чем при испытании образцов вакцин № 3 и 4 (изготовленных по аналогичной технологии на основе адьюванта Montanide ISA 78 VG), где среднегрупповой титр антител составил 2658 и 1242, соответственно.

У птицы контрольной группы специфических антител к *P. Multocida* в крови на протяжении всего периода эксперимента обнаружено не было, что подтверждает достоверность полученных результатов.

Выводы/ Conclusion

1. Обобщенный анализ физических и биологических свойства всех выше испытанных инактивированных вакцин против пастереллеза птиц позволяет сделать заключение, что наилучшим препаратом является образец вакцины, изготовленный на основе адьюванта Montanide ISA 70 VG с содержанием 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 0,3 см³.

2. При определении оптимального прививного объема испытанных вакцин, установлено, что образцы инак-

тивированных вакцин против пастереллеза птиц, изготовленные на основе адьювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA-78 VG содержащие в одной иммунизирующей дозе объемом 0,3 см³ 1,5 млрд микробных клеток *P. multocida* ареактогенны или обладают в той или иной степени остаточной реактогенностью, так же, как и образцы вакцин, изготовленные на аналогичных адьювантах содержащие 1,5 млрд микробных в одной иммунизирующей дозе объемом 0,5 см³.

Но несмотря на одинаковые показатели по безвредности, полученные результаты антигенной активности вакцин позволяют заключить, что антиген *P. multocida* в концентрации 1,5 млрд микробных клеток в одной иммунизирующей дозе вакцины, как изготовленной на основе адьювантов Montanide ISA 70 VG, так и на основе Montanide ISA-78 VG проявляет более выраженную антигенную активность в прививном объеме 0,3 см³, нежели чем в объеме 0,5 см³.

3. Сравнительная оценка методов введения инактивированных вакцин против пастереллеза птиц молодняку цыплят 30 сут возраста показала, что антигенная активность вакцин проявляется выше при введении ее подкожно в среднюю часть шеи, нежели чем внутримышечно в грудную мышцу или находится в одинаковом диапазоне при обоих методах введения.

При оценке реактогенности было очевидно, что все образцы в независимости от вида адьюванта, более выраженные остаточные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу, нежели, чем при подкожном введении в область средней трети шеи.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Мифтахова А.В., Дроздова Л.И., Никитин А.П. Пастереллез птицы. В сб.: *Болезни птиц. сборник статей*. 2020: 148-150.
2. Корочкин Р. Пастереллезы, пастереллы и связанные с ними болезни животных. *Ветеринарное дело (Минск)*. 2022; 1: 17-23.
3. Кожевников Е.М. Бактерионосительство, его значение в экологии *Pasteurella multocida* и борьбе с пастереллезом птиц. Автореф. докт. дис. Воронеж, 1975.
4. Рождественская Т.Н., Панкратов С.В., Рузина А.В., Новикова О.Б. Респираторный синдром — открытые ворота для инфекции. *Птица и птицепродукты*. 2020; 6: 40-42 (DOI: 10.30975/2073-4999-2020-22-6-40-42).
5. Громов И. Н., Журов Д. О., Баршай Е. А. Респираторные болезни птиц: патоморфология и диагностика. Витебск, 2017.
6. Громов И., Субботина И., Коцюба Е. Патоморфология острых септических бактериозов и вириозов птиц, протекающих с преимущественным поражением органов дыхания. *Ветеринарное дело (Минск)*. 2022; 2: 6-14.
7. Панкратов С.В., Сухинин А.А., Рождественская Т.Н., Рузина А.В. Респираторный синдром птиц. Этиология, диагностика, меры борьбы и профилактики. *Птица и птицепродукты*. 2021; 4: 34-36 (DOI: 10.30975/2073-4999-2021-23-4-34-36).
8. Хайсанова В.С., Васильев Д.А. Изучение антибиотикоустойчивости бактерий вида *P. Multocida*. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2021; 5: 46-49.
9. Wentzel J.M., van Vuuren M., Biggs L.J. comparing the minimum inhibitory and mutant prevention concentrations of selected antibiotics against animal isolates of *Pasteurella multocida* and *Salmonella typhimurium*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2022; T. 89. № 1.
10. Ahr A.D., Salib F.A.-A., Amin M.M., Soliman Y.A. Multi-drug resistant *Pasteurella multocida* and *mannheimia haemolytica* strains isolated from different hosts affected by pneumonic pasteurellosis in Egypt. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2021; T. 9. № 3: 356-364.
11. Saha O., Islam M.R., Rahman M.S., Hoque M.N., Hossain M.A., Sultana M. First report from bangladesh on genetic diversity of multidrug-resistant *Pasteurella multocida* type b:2 in fowl cholera. *Veterinary World*. 2021; T. 14. № 9: 2527-2542.

REFERENCES

1. Miftakhova A.V., Drozdova L.I., Nikitin A.P. Bird pasteurellosis. In digest: Diseases of Birds. Digest of articles. 2020: 148-150. (In Russian)
2. Korochkin R. Pasteurellosis, Pasteurella and related animal diseases. Veterinary business (Minsk). 2022; 1:17-23. (In Russian)
3. Kozhevnikov E.M. Bacteriocarrier, its importance in the ecology of *Pasteurella multocida* and in the control of avian pasteurellosis. *AutoAbstract doc. dis. Voronezh*, 1975. (In Russian)
4. Rozhdestvenskaya T.N., Pankratov S.V., Ruzina A.V., Novikova O.B. Respiratory syndrome — an open gate for infection. *Poultry and poultry products*. 2020; 6: 40-42 (DOI: 10.30975/2073-4999-2020-22-6-40-42). (In Russian)
5. Gromov I. N., Zhurov D. O., Barshay E. A. *Respiratory avian diseases: pathomorphology and diagnostics*. Vitebsk, 2017. (In Russian)
6. Gromov I., Subbotina I., Kotsyuba E. Pathomorphology of acute septic bacterioses and viroses of birds occurring with a predominant lesion of the respiratory organs. Veterinary business (Minsk). 2022; 2:6-14. (In Russian)
7. Pankratov S.V., Sukhinin A.A., Rozhdestvenskaya T.N., Ruzina A.V. Respiratory Syndrome of Birds. Etiology, diagnosis, control and prevention measures. *Poultry and poultry products*. 2021; 4: 34-36 (DOI: 10.30975/2073-4999-2021-23-4-34-36). (In Russian)
8. Khaisanova V.S., Vasiliev D.A. Study of antibiotic resistance of *P. Multocida* bacteria. *Modern Science: actual problems of theory and practice. Series: Natural and technical sciences*. 2021; 5: 46-49. (In Russian)/
9. Wentzel J.M., van Vuuren M., Biggs L.J. comparing the minimum inhibitory and mutant prevention concentrations of selected antibiotics against animal isolates of *Pasteurella multocida* and *Salmonella typhimurium*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2022; T. 89. № 1.
10. Ahr A.D., Salib F.A.-A., Amin M.M., Soliman Y.A. Multi-drug resistant *Pasteurella multocida* and *mannheimia haemolytica* strains isolated from different hosts affected by pneumonic pasteurellosis in Egypt. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2021; T. 9. № 3: 356-364.
11. Saha O., Islam M.R., Rahman M.S., Hoque M.N., Hossain M.A., Sultana M. First report from bangladesh on genetic diversity of multidrug-resistant *Pasteurella multocida* type b:2 in fowl cholera. *Veterinary World*. 2021; T. 14. № 9: 2527-2542.

12. Naqvi S.A.R., Kanwal L., Saeed M., Atta-ul-Haq, Shah S.M.A., Nisar J., Akram M., Nisar Z. Antimicrobial and antihypercholesterolemic activities of pulicaria gnaphalodes Dose-Response. 2020; T. 18. № 1.

13. Бирюченкова М.В., Тимина А.М., Щербаков А.В. Генодиагностика заболеваний, ассоциированных с *Pasteurella multocida*. В сб.: *Достижения молодых ученых в ветеринарную практику*. Владимир, 2016: 192-198.

14. Van Dijk J.G.B., Iverson S.A., Gilchrist H.G., Buttler E.I., Forbes M.R., Hennin H.L., Harms N.J., Soos C., Love O.P., Lesceu S., Foster J.T. Herd immunity drives the epidemic fadeout of avian cholera in arctic-nesting seabirds. *Scientific Reports*. 2021; T. 11. № 1: 1046.

15. Hoelzer, K. Bielke L., Blake D.P. Vaccines as alternatives to antibiotics for food producing animals. Part 2: new approaches and potential solutions. *Veterinary Research*. 2018; Vol. 49, № 1: 70.

16. Smallman T.R., Williams G.C., Harper M., Boyce J.D. Genome-wide investigation of *Pasteurella multocida* identifies the stringent response as a negative regulator of hyaluronic acid capsule production. *Microbiology Spectrum*. 2022; T. 10. № 2.

17. Малик Е.В., Малик Н.И., Гулейчик И.А., Чупахина Н.А., Маленкова Л.А., Самохвалова Н.С. Анализ проблем идентификации культур *Pasteurella multocida* по капсульным группам и продукции токсинов В кн.: *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы. Сборник трудов XIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского; IV Всероссийской научно-практической конференции; VI Всероссийского симпозиума*. Москва, 2021: 105.

18. Малик Е.В., Маленкова Л.А., Малик Н.И., Русанов И.А., Прасолова О.В. Фенотипирование штаммов и изолятов *P. multocida* по капсульным группам в гялуранидазной и акрифлавиновой пробам. В кн.: *Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения*. Москва, 2021: 49-50.

19. Семина А.Н. Изучение генома *Pasteurella multocida* для специфического определения в птицеводстве. *Эффективное животноводство*. 2020; 4 (161): 142-143.

20. Борисенкова А.Н. Значение соматического и капсульного антигенов *P. multocida* в иммунологической специфичности вакцин. *Ветеринария*. 1978; 5: 40-42.

21. Кэленек Б.У., Барна Х.Дж., Биэрда Ч.У., Макдугалда Л.Р., Сэйфа И.М. *Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц*. М., 2011.

22. Yang X., Wu Q., Zhang J. Prevalence, bacterial load, and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars isolated from retail meat and meat products in China. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 2121.

23. Шемельков Е.В., Алипер Т.И., Куликова Т.С., Кунаков К.Ю., Булгаков А.Д., Верховский О.А. Подбор адьюванта для субъединичной маркированной вакцины против классической чумы свиней *Ветеринария*. 2022; 4: 32-40.

24. Рождественская Т. Н., Панкратов С. В., Сапегина Е. В., Томина Е. В. Испытание новых адьювантов SEPPIC для изготовления вакцин против гемофилизы птиц. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2020; 11: 23-27 (DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202011004)

25. Nikitin G., Pankratov S., Sukhinin A., Prikhod'ko E., Rozhdestvenskaya T., Ruzina A. Adjuvants for inactivated vaccine against avibacterium paragallinarum. *FASEB Journal*. 2022; T. 36. — № S1. (DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3128)

26. Лакин Г.Ф. Биометрия // М.: «Высшая школа». — 1990. — 352 с.

12. Naqvi S.A.R., Kanwal L., Saeed M., Atta-ul-Haq, Shah S.M.A., Nisar J., Akram M., Nisar Z. Antimicrobial and antihypercholesterolemic activities of pulicaria gnaphalodes Dose-Response. 2020; T. 18. № 1.

13. Biryuchenkova M.V., Timina A.M., Shcherbakov A.V. Gene diagnostics of diseases associated with *Pasteurella multocida*. In col.: *Achievements of young scientists in veterinary practice*. Vladimir, 2016: 192-198. (In Russian)

14. Van Dijk J.G.B., Iverson S.A., Gilchrist H.G., Buttler E.I., Forbes M.R., Hennin H.L., Harms N.J., Soos C., Love O.P., Lesceu S., Foster J.T. Herd immunity drives the epidemic fadeout of avian cholera in arctic-nesting seabirds. *Scientific Reports*. 2021; T. 11. № 1: 1046.

15. Hoelzer, K. Bielke L., Blake D.P. Vaccines as alternatives to antibiotics for food producing animals. Part 2: new approaches and potential solutions. *Veterinary Research*. 2018; Vol. 49, № 1: 70.

16. Smallman T.R., Williams G.C., Harper M., Boyce J.D. Genome-wide investigation of *Pasteurella multocida* identifies the stringent response as a negative regulator of hyaluronic acid capsule production. *Microbiology Spectrum*. 2022; T. 10. № 2.

17. Малик Е.В., Малик Н.И., Гулейчик И.А., Чупахина Н.А., Маленкова Л.А., Самохвалова Н.С. Analysis of problems with identification of *Pasteurella multocida* cultures by capsular groups and production of toxins , In the book: *Infectious diseases in the modern world: evolution, current and future threats. Proceedings of the XIII Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after academician V.I. Pokrovsky; IV All-Russian Scientific and Practical Conference; VI All-Russian Symposium*. Moscow, 2021: 105. (In Russian)

18. Малик Е.В., Маленкова Л.А., Малик Н.И., Русанов И.А., Прасолова О.В. Phenotyping of strains and isolates of *P. multocida* by capsular groups in hyaluronidase and acriflavine tests. In the book: *Topical issues of biology, biotechnology, veterinary medicine, animal science, commodity science and processing of raw materials of animal and vegetable origin*. Moscow, 2021: 49-50. (In Russian)

19. Semina A.N. Study of the *Pasteurella multocida* genome for specific identification in the poultry industry. *Efficient animal husbandry*. 2020; 4 (161): 142-143. (In Russian)

20. Borisenkova A.N. The role of somatic and capsular antigens of *P. multocida* in the immunological specificity of vaccines. *Veterinary medicine*. 1978; 5: 40-42. (In Russian)

21. B. W. Calneck, H. J. Barnes, C. W. Bearda, L. R. McDougald, and I. M. Seifa, *Diseases of poultry and farm birds*. М., 2011. (In Russian)

22. Yang X., Wu Q., Zhang J. Prevalence, bacterial load, and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars isolated from retail meat and meat products in China. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 2121.

23. Шемельков Е.В., Алипер Т.И., Куликова Т.С., Кунаков К.Ю., Булгаков А.Д., Верховский О.А. Подбор адьюванта для субъединичной маркированной вакцины против классической чумы свиней *Ветеринария*. 2022; 4: 32-40. (In Russian)

24. Rozhdestvenskaya T. N., Pankratov S. V., Sapagina E. V., Tomina E. V. Testing of new SEPPIC adjuvants for the production of vaccines against avian hemophilias. *Veterinary medicine, zootechnics and biotechnology*. 2020; 11: 23-27 (DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202011004). (In Russian)

25. Nikitin G., Pankratov S., Sukhinin A., Prikhod'ko E., Rozhdestvenskaya T., Ruzina A. Adjuvants for inactivated vaccine against avibacterium paragallinarum. *FASEB Journal*. 2022; T. 36. — № S1. (DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3128)

26. Lakin G.F. *Biometrics* // М.: «High School». — 1990. — 352 с. (In Russian)

ОБ АВТОРАХ:

Татьяна Николаевна Рождественская, д.в.н., заведующий лабораторией болезней птиц Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук, Рязанский пр., 24 корпус 1, Москва, 109428, Российская Федерация
E-mail: 80957434274@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1272-8202>

Лилия Каримова, к.х.н., директор по развитию бизнеса в России и странах СНГ SEPPIC, Космодамианская наб., д. 52, стр. 2, Москва, 115035, Российская Федерация
E-mail: liliya.karimova@airliquide.com

Сергей Вячеславович Панкратов, к.в.н., ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, ул. Черниговская, д. 5, Санкт-Петербург, 196084, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: 2000step@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6824-1503>

Анна Владимировна Рузина, научный сотрудник лаборатории болезней птиц Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Рязанский пр., 24 корпус 1, Москва, 109428, Российская Федерация
E-mail: a.ruzina@avivac.com
<https://orcid.org/0000-0001-8161-1716>

Томина Елена Владимировна, начальник отдела контроля качества «Научно-производственное предприятие «АВИВАК» (ООО «НПП «АВИВАК»), Промзона Орлинская зона, 21, литер А, Ленинградская область, Ломоносовский район, д. Горбунки, 188502, Российская Федерация
E-mail: info@avivac.com
<https://orcid.org/0000-0001-7351-1184>

ABOUT THE AUTHORS:

Tatyana Nikolaevna Rozhdestvenskaya, Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Avian Diseases Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Ryazansky pr., 24 building 1, Moscow, 109428, Russian Federation
E-mail: 80957434274@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1272-8202>

Liliya Karimova, Ph.D. in Chemistry, Director of Business Development in Russia and CIS SEPPIC, Kosmodamianskaya nab., 52, p. 2, Moscow, 115035, Russian Federation
E-mail: liliya.karimova@airliquide.com

Sergey Vyacheslavovich Pankratov, Ph.D in Veterinary medicine, assistant of the Department of Microbiology, Virology and Immunology St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, st. Chernigovskaya, 5, St. Petersburg, 196084, st. Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: 2000step@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6824-1503>

Anna Vladimirovna Ruzina, Researcher at the laboratory of avian diseases Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences (FGBNU FSC VIEV RAS), Ryazansky pr., 24 building 1, Moscow, 109428, Russian Federation
E-mail: a.ruzina@avivac.com
<https://orcid.org/0000-0001-8161-1716>

Tomina Elena Vladimirovna, Head of Quality Control Department Limited Liability Company "Scientific-Production Enterprise "AVIVAC" ("NPP "AVIVAC"), Industrial zone Orlinkaya zone, 21, letter A, Leningrad region, Lomonosovsky district, village Gorbunki, 188502, Russian Federation
E-mail: info@avivac.com
<https://orcid.org/0000-0001-7351-1184>