

ЗЫБИНА Татьяна Николаевна

**ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИШТАММНОЙ  
ВИРУСВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ  
БОЛЕЗНИ**

06.02.02 – «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология»

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

**Научный руководитель:** **Ирза Виктор Николаевич**  
доктор ветеринарных наук, доцент

**Официальные оппоненты:** **Пашкин Александр Васильевич** доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой «Микробиология, вирусология, биотехнология, радиобиология и безопасность жизнедеятельности» ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»;

**Матвеева Ирина Николаевна** доктор биологических наук, профессор, заведующая отделом молекулярной биологии и вирусологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»

**Ведущая организация:** ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»

Защита состоится 8 июня 2021 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета Д220.015.01 при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» по адресу: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец. Тел: (4922) 52-99-62

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ВНИИЗЖ». Полный текст диссертации, автореферата и отзыв научного руководителя размещены на официальном сайте [www.arriah.ru](http://www.arriah.ru) ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2021г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Жбанова Татьяна Валентиновна

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1 Актуальность темы.** Проблема инфекционной бурсальной болезни (ИББ), или болезни Гамборо, в течение последних четырех десятилетий сохраняет свою актуальность. Вирус ИББ широко распространен в мире и представляет для промышленного птицеводства большую потенциальную опасность, которая возрастает в связи с ростом международных экспортно-импортных операций в сфере птицеводства. При этом неблагоприятными по ИББ могут быть как развивающиеся (Egbal S. et al., 2004, Jackwood D., 2004; Njagi W. et al., 2015), так и развитые страны (Zachar T. et al., 2016).

Заболевание птиц ИББ клинически проявляется диареей, летальностью, характеризуется поражением фабрициевой сумки, почек, внутримышечными гемorragиями (Борисов А.В., 2000). У птиц-реконвалесцентов присутствуют иммунопатологии (Джавадов Э.Д., 2004). Перечисленные явления обуславливают совокупный экономический ущерб.

Важно подчеркнуть, что циркулирующие в естественных условиях, штаммы вируса ИББ (в том числе и вакцинные) эволюционируют и в процессе естественного отбора могут существенно увеличить вирулентность (Alkie T. 2016, Jackwood D., 2007, Sudhakar P., 2017). В этой связи высокая вероятность риска возникновения ИББ требует обязательной специфической профилактики данной болезни практически во всем мире (Алиев А. С., 2010, Борисов А.В., 2000). На этом основании совершенствование препаратов специфической профилактики ИББ представляется актуальным.

Для создания активного иммунитета к вирусу ИББ у молодняка используют живые вирусвакцины, у которых иммуногенным компонентом являются вакцинные штаммы. Наиболее важные фенотипические признаки вакцинных штаммов вируса обобщенно выглядят следующим образом (Lasher H., 1994, Lukert P., 1997, Winterfield R., 1978): - иммуногенность – способность индуцировать системный специфический иммунитет; инвазивность – способность преодолевать защитные барьеры организма, в том числе трансвариальный иммунитет; - реактогенность – степень повреждений структуры и функции органов-мишеней и отрицательное влияние на хозяйственно-полезные функции птицы.

Как правило, перечисленные признаки известных вакцинных штаммов ИББ связаны, т.е. более инвазивный штамм будет более реактогенным и иммуногенным. На этом основании принято различать (OIE, 2018; Алиев А. С., 2010; Mazariegos L., 1990; Van Den Berg T., 1991) «мягкие», «промежуточные» и «горячие» штаммы в зависимости от их способности преодолевать трансвариальный иммунитет (быть устойчивыми к нейтрализующему действию циркулирующих материнских антител) и реактогенному действию (Nyska A. et al., 1994).

Например, штамм «Винтерфилд 2512» относится к «интермедиальной» группе, умеренно повреждает ткани бурс, однако характеризуется слабой

иммунной инвазивностью (высокие титры трансовариальных антител ограничивают развитие вируса), вследствие чего поствакцинальный иммунитет может быть недостаточно напряженным. При этом, штамм «БГ» относится к «горячим» вариантам, и способен преодолевать достаточно напряженный материнский иммунитет, однако демонстрирует большую реактогенность (Борисов А.В., 2000).

Рассмотренная информация позволила считать целесообразной разработку вирусвакцины против ИББ на основе смеси штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ», которые в оптимальной пропорции могли бы сочетать присущие им свойства.

**1.2 Степень разработанности проблемы.** В качестве наиболее близких аналогов предполагаемой разработки были рассмотрены вирусвакцины на основе штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» выпускаемые ООО «НПО «АВИВАК в виде монопрепаратов имеющих различные прививные дозы (Инструкция по применению вакцины ... «АВИВАК-ИББ»). Однако обоснования используемых доз и результатов исследований иммунобиологических свойств указанных препаратов в доступной литературе не представлено.

**1.3 Цель и задачи исследований.** Целью работы являлось изучение иммунобиологических свойств полиштампной вирусвакцины против инфекционной бурсальной болезни на основе штаммов «БГ» и «Винтерфилд 2512». В рамках поставленной цели были определены следующие задачи:

- сравнить действие различных иммунизирующих доз штаммов «БГ» и «Винтерфилд 2512» по скорости достижения протективного уровня гуморального иммунитета к вирусу ИББ и определить их оптимальную пропорцию в составе полиштампного препарата;
- оценить протективную функцию поствакцинального иммунитета птиц после применения полиштампного препарата при искусственном заражении;
- установить критическую величину титра трансовариальных антител, при которой полиштампный препарат способен индуцировать активную форму иммунитета;
- разработать способ количественной оценки относительной вирулентности штаммов вируса ИББ с использованием положительного контроля и сравнить вирулентность инфекционных вирусных материалов различной природы, в том числе полиштампного препарата и составляющих его штаммов;
- сравнить иммунодепрессивное действие полиштампной вирусвакцины и составляющих ее штаммов;
- оценить изменение биологической активности полиштампной вирусвакцины при хранении.

**1.4 Научная новизна работы.** В процессе выполнения исследований были получены результаты, имеющие научную значимость:

- показан феномен усиления иммунной реакции птицы на препарат, содержащий полиштаммный иммуногенный компонент в сравнении с отдельно испытанными составляющими его штаммами вируса ИББ;

- установлен критический титр трансвариальных антител, при котором полиштаммная вирусвакцина способна индуцировать активную форму иммунитета. Данный показатель позволяет определять минимальный возраст цыплят, допускающий проведение иммунизации и предотвратить возможную нейтрализацию вакцинного вируса в организме птицы;

- предложен метод количественной оценки относительной вирулентности штаммов вируса ИББ на основе показателей инфекционности, летальности и коэффициента атрофии бурсы. Данный метод позволяет комплексно характеризовать изучаемые штаммы вируса и проводить соответствующие сравнения.

**1.5 Теоретическая и практическая значимость исследований.** На основании результатов проведенных исследований подготовлена нормативная документация на вирусвакцину против инфекционной бурсальной болезни живой сухой «Гамборомикс», которая одобрена ученым советом ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» и утверждена директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» в установленном порядке.

- «Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ» Вирусвакцина против инфекционной бурсальной болезни живая сухая “Гамборомикс” (СТО 00495527-0279-2017)»;

- «Инструкция по ветеринарному применению вирусвакцины против инфекционной бурсальной болезни живой сухой “Гамборомикс”»;

- «Промышленный регламент по изготовлению и контролю вирусвакцины против инфекционной бурсальной болезни живой сухой “Гамборомикс”».

Препарат производится по стандартам GMP и по основным характеристикам соответствует требованиям, изложенным в «Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals». Вирусвакцина прошла полный комплекс доклинических и клинических испытаний, после чего была зарегистрирована в РФ (номер регистрационного удостоверения 12-1-15.17-3946, №. ПВР-1-15.17/03402).

В рамках темы диссертации разработаны, одобрены ученым советом и утверждены директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по оценке вирулентности штаммов вируса инфекционной бурсальной болезни с использованием относительных коэффициентов летальности и атрофии фабрициевой сумки» (11.05.2018 г.).

**1.6 Методология исследований.** Методология проведенных исследований определялась поставленными задачами. Применяли вирусологические, иммунологические и патологоанатомические методы. Для интерпретации полученных результатов использовали статистические критерии.

### **1.7 Основные положения диссертационной работы, выносимые на публичное представление:**

- определение эффективных иммунизирующих доз вакцинных штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» по критерию скорости достижения протективного уровня гуморального иммунитета к вирусу ИББ и составление полиштамдного иммуногенного компонента вирусвакцины;
- особенности развития гуморальной иммунной реакции птицы на вакцину, содержащую полиштамдный иммуногенный компонент в сравнении с препаратами на основе не смешанных штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ»;
- оценка протективной функции поствакцинального иммунитета птиц после применения полиштамдного препарата при искусственном заражении;
- критическая величина титра трансовариальных антител птицы, при которой полиштамдный препарат способен индуцировать активную форму иммунитета;
- метод количественной оценки относительной вирулентности штаммов вируса ИББ на основе показателей инфекционности, летальности и коэффициента атрофии бурсы;
- оценка изменения биологической активности вирусвакцины на основе полиштамдного иммуногенного компонента при хранении.

**1.8 Личный вклад соискателя.** Планирование и проведение основных экспериментов, обобщение полученных данных выполнены соискателем самостоятельно. Консультативную и методическую помощь при выполнении отдельных этапов работы оказывали: Пяткина А.А., Кулаков В.Ю., Меньщикова А.Э., Кукушкина М.С., Федосеев К.Ю., Долгов Д.Л., за что автор выражает им искреннюю благодарность.

Исследования по диссертационной работе выполнены в период с 2016 по 2020 гг. в соответствии с планами НИР в ФГБУ «ВНИИЗЖ».

**1.9 Апробация результатов работы.** Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на заседаниях Ученого совета и методической комиссии ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2016-2020 гг.. Результаты исследований были опубликованы в материалах научной конференции «Микромир/макропроблемы», (ФИЦВиМ, 2018 г.), а также на V Международной научно-практической конференции «Достижение молодых ученых – в ветеринарную практику», (ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2019 г.).

**1.10 Публикации результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ, из которых 3 - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

**1.11 Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 118 страницах компьютерного текста и содержит разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований, заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Список литературы включает 120 источников, в том числе 76 зарубежных авторов. Работа

иллюстрирована 9 рисунками и 12 таблицами. В приложении представлены копии титульных листов документов, подтверждающих результаты отдельных этапов работы, их научную новизну и практическую значимость.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материалы

**Штаммы вируса.** В работе использовали штаммы вируса Гамборо, относящиеся к семейству Birnaviridae; роду Avibirnavirus; серотипу I: вакцинный штамм «Винтерфилд 2512»; вакцинный штамм «БГ» в виде расплодов рабочих посевных материалов на развивающихся SPF-эмбрионах кур. Вирусосодержащим материалом являлись инфицированные эмбрионы.

Вирулентный штамм «52/70» поддерживали пассажами на цыплятах, выведенных из SPF-эмбрионов (SPF-цыплятах). Вирусосодержащим материалом являлись бурсы заболевших или погибших цыплят.

**Животные.** В качестве подопытных птиц использовали клинически здоровых цыплят серонегативных к вирусу ИББ или SPF-цыплят.

Для культивирования вируса и выведения цыплят использовали эмбрионы кур 9-11-суточного срока инкубации, категории SPF фирмы Lohman Tiehrzucht (Германия).

**Растворы и реактивы.** Все вирусные материалы готовили в виде осветленного гомогената инфицированных тканей на изотоническом фосфатном буфере (0,15М, рН 7,2÷7,6).

**Оборудование и инструментарий.** Все хирургические процедуры выполняли с использованием стандартных инструментов (пинцетов, скальпелей, ножниц). Для взвешивания использовали электронные весы «OHAUS» SPU 601, Switzerland (точность измерения 0,1 г) и «GH-120» A&D, Japan (точность измерения 0,01 г).

### 2.2 Методы

**Культивирование вируса ИББ.** Инфицирующий материал вносили на ХАО в искусственно созданной воздушной камере. Инфекционный процесс в эмбрионе характеризовался латентным периодом, продолжительностью до 48 ч. Далее, наступала смерть эмбриона, что клинически выражалось в опустошении кровеносных сосудов.

При культивировании вирулентного штамма вируса, птиц инфицировали путем выпаивания с помощью пипетки-дозатора каждой птице по 1 см<sup>3</sup> инфицирующего материала. Сбор вирусного материала, в виде бурс, производили после эвтаназии цыплят на 4 – 5 сутки или при вскрытии цыплят, павших в этот период.

**Вакцинация птиц.** Содержащий заданную дозу иммунизирующий вирусный материал вводили птице путем принудительного выпаивания с помощью пипетки-

дозатора в объеме 1 см<sup>3</sup>. Контрольной группе птиц аналогичным способом в таком же объеме выпаивали буферный раствор.

**Экспериментальное заражение птиц.** Материал, содержащий заданную дозу вирулентного вируса, принудительно выпаивали птицам в объеме 1 см<sup>3</sup> с помощью пипетки-дозатора.

**Эвтаназия птиц.** Процедуру эвтаназии птиц выполняли в соответствии с СТО 00495527-0002 с использованием паров трихлорметана.

**Оценка инфекционного титра вируса.** Инфекционную активность вирусных материалов определяли титрованием на развивающихся SPF-эмбрионах кур методом последовательных кратных разведений. Расчет величины инфекционного титра (ЭИД<sub>50</sub>) производили по методу Спирмена-Кербера (Урбах В.Ю., 1975).

**Серологические исследования.** Определяли концентрацию (титр) антител к вирусу ИББ в сыворотках крови птиц в непрямом твердофазном иммуноферментном тесте (ИФ-тест). Для проведения анализа использовали диагностические наборы фирмы «Synbiotics» (Zoetis), USA. Оценки оптической плотности тестируемых проб и последующие расчеты величин титров сывороточных антител (Т) проводили в соответствии с прилагаемой инструкцией на совмещенном с компьютером спектрофотометре-ридере «STL», Австрия.

**Статистический анализ экспериментальных данных.** Использовали параметрические (Закс Л., 1976; Поллард Д., 1982) и непараметрические (Холлендер М., 1983) методы анализа выборок варьирующих переменных. Определяли показатели связи зависимых переменных в виде коэффициентов корреляции или построения регрессионных моделей (Мисюк Н.С., 1975). Для вычислительных операций и построения диаграмм использовали приложение Microsoft Office Excel.

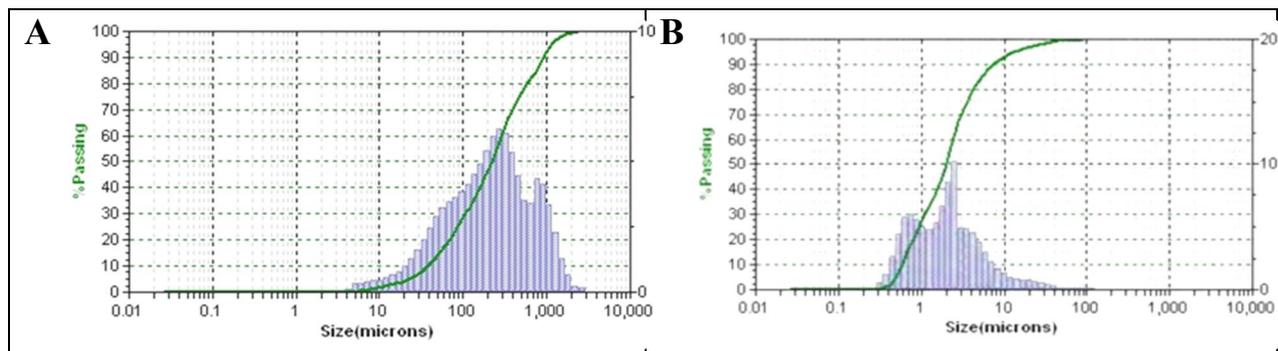
### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Вирусодержащий материал.** Исходный вирусодержащий (вирусный) материал в виде тушек инфицированных эмбрионов получали после их гибели, которую клинически регистрировали по опустошению подскорлупных кровеносных сосудов при овоскопии.

**Вирусодержащий гомогенат тканей эмбрионов.** Из вирусодержащих эмбриональных тканей, на коллоидной мельнице, готовили гомогенат, дисперсность которого оценивали на лазерном анализаторе частиц.

Установили, что по показателю накопленной частоты встречаемости исследуемый материал на 50% состоял из частиц размером 218,9 мкм. Перед использованием в экспериментах материал осветляли центрифугированием при 2300g. Процедура осветления практически на два порядка изменила модальный

размер суспендированных частиц. Соответствующая оценка составила 2,4 мкм. Соответствующие результаты приведены на рисунке 1.



**Рисунок 1 - Распределение линейных размеров частиц в гомогенате тканей инфицированных эмбрионов до (А) и после (В) центрифугирования при 2300 g**

Установленный размер был меньше средней величины клетки эмбриона ( $\approx 30$  мкм), что указывало на разрушение большинства клеточных структур, и суспензия в основном содержит внеклеточный (корпускулярный) вирус. Это, в свою очередь, минимизировало ошибки при определении инфекционной активности вируса в препаратах и приготовлении заданных инфекционных доз.

#### **Биологическая активность вакцинных вирусов при культивировании.**

При проведении расплодок на SPF-эмбрионах было установлено, что биологические свойства исследуемых штаммов вируса отличались. Близкие по величине дозы заражения эмбрионов демонстрировали различное накопление вируса. На грамм ткани эмбриона коэффициент накопления вируса штамма «БГ» был в 16 раз ниже, чем штамм «Винтерфилд 2512».

#### **Получение полиштамдного препарата. Составление смеси из штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» вируса ИББ.**

При составлении смеси, пропорции штаммов рассчитывали на основе экспериментальных оценок инфекционных титров вирусных материалов ( $\lg T_{inf}$ ), учитывая соответствующие стандартные отклонения ( $\pm S$ ) и двукратное разбавление вирусных материалов при смешивании. Для заданной иммунизирующей дозы ( $D$ ) расчет финального коэффициента разбавления вирусного материала ( $K_D$ ) каждого штамма перед смешиванием в равных пропорциях выполняли по следующей формуле (1)

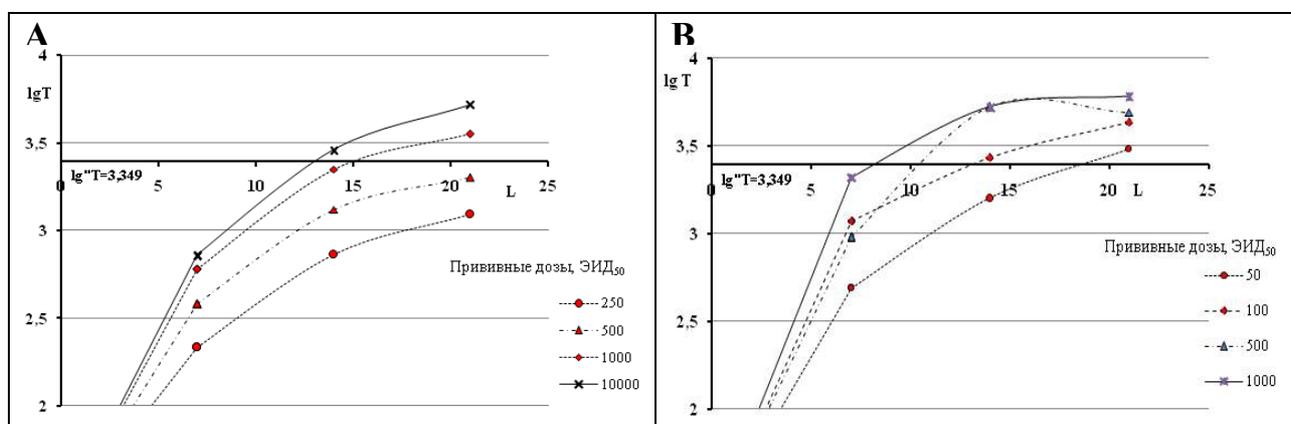
$$\lg K_D = (\lg T_{inf} - 2S) - (\lg D + \lg 2), \quad (1)$$

**Определение эффективных иммунизирующих доз исследуемых штаммов по времени достижения протективного уровня гуморального иммунитета.** Птиц в возрасте 20 суток, серонегативных к вирусу ИББ, иммунизировали различными дозами вируса штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ».

Определяли наименьшую дозу вируса (\*D), которая в течение не более чем 21 сутки обусловит значение титра антител  $\lg T \geq 3,349$  (или  $T \approx 2234$ ), который приняли как протективный (соответствующий защищенности не менее 95% поголовья). Значения титров антител соответственно испытанных прививных доз вируса приведены на рисунке 2.

Установили, что наименьшая доза вируса штамма «Винтерфилд 2512», способная менее чем через за 21 сутки индуцировать у птиц протективный уровень гуморального иммунитета, составила 1000 ЭИД<sub>50</sub>. Данная величина была принята в качестве оптимальной иммунизирующей дозы данного штамма (\*D<sub>Винт</sub>=3 lgЭИД<sub>50</sub>).

Эффективная прививная доза штамма «БГ» была на порядок меньше чем у штамма «Винтерфилд 2512» и составила 100 ЭИД<sub>50</sub> (\*D<sub>БГ</sub>=2 lgЭИД<sub>50</sub>). При этом динамика развития иммунной реакции на штамм «БГ» была несколько интенсивнее.

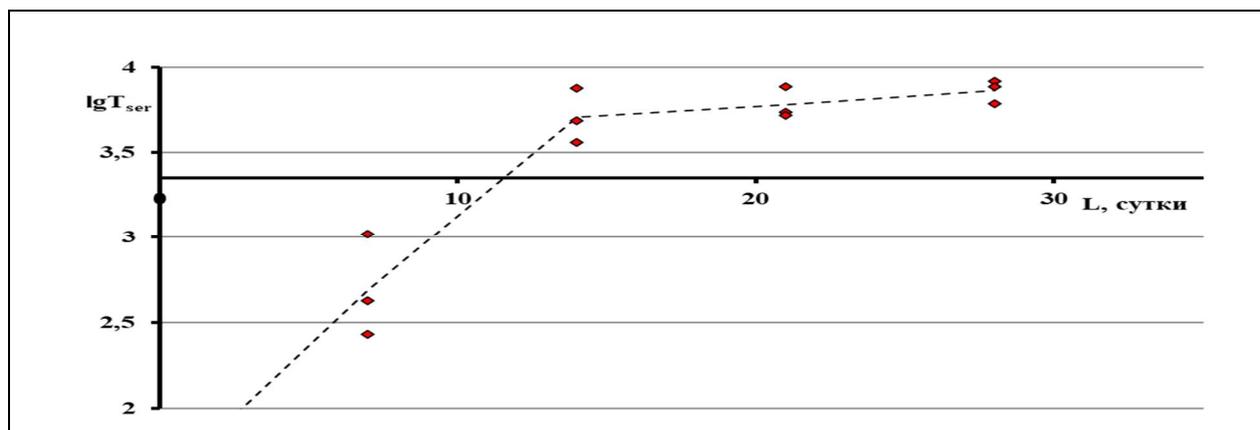


**Рисунок 2 - Уровень антител после иммунизации птиц различными дозами вируса ИББ штаммами «Винтерфилд 2512» (А) и «БГ» (В)**

В соответствии с основной задачей исследований, полученные результаты позволили считать, что полиштамменный препарат должен содержать в одной иммунизирующей дозе (или в прививном объеме) не менее 1000 ЭИД<sub>50</sub> вируса штамма «Винтерфилд 2512» и не менее 100 ЭИД<sub>50</sub> вируса штамма «БГ».

**Оценка напряженности иммунитета после прививки полиштамменной вирусвакциной.**

**Оценка гуморальной иммунной реакции.** На SPF-цыплятах в возрасте 15 суток исследовали напряженность гуморального иммунитета после прививки полиштамменным препаратом. Через заданные интервалы времени, в сыворотках крови привитых птиц определяли титр антител к вирусу ИББ. Полученные результаты представлены на рисунке 3.



**Рисунок 3 - Результаты иммунизации птиц вирусвакциной «Гамборомикс» из комбинации штаммов «Винтерфилд 2512» (1000 ЭИД<sub>50</sub>) и «БГ» (100 ЭИД<sub>50</sub>)**

Установленные величины сравнили с аналогичными оценками, полученными ранее для монопрепаратов. Соответствующие результаты представлены в таблице 1.

**Таблица 1 - Сравнение значений титров сывороточных антител («TS») к вирусу ИББ через 14 и 21 сутки после иммунизации птиц вирусвакцинами из штаммов «Винтерфилд 2512», «БГ» и полиштаммной вирусвакциной «Гамборомикс» в рекомендованных прививных дозах (статистический анализ)\***

Штамм	«Винтерфилд 2512»		«БГ»		Полиштаммный препарат	
	14	21	14	21	14	21
lgT (S;n)*	3,35 (0,13; 10)	3,55 (0,12; 10)	3,43 (0,16; 10)	3,63 (0,12; 10)	3,71 (0,08; 30)	3,78 (0,07; 30)
p**	<< 0,01	< 0,01	<< 0,01	<< 0,01	н.о. ***	н.о.

Примечания:

\* - дано среднее значение, в скобках указаны: S – стандартное отклонение; n – число измерений;

\*\* - вероятность (ошибки прогноза) существенности различий соответствующих оценок, установленных для полиштаммного препарата и отдельно испытанных штаммов (метод Шеффе);

Определили, что через 14 суток после применения полиштаммного препарата величина титра антител, при прочих равных условиях, возросла относительно монопрепаратов из штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» в 2,3 и в 1,9 раза, соответственно. Через 21 сутки показатели прироста составили 1,7 и 1,4 раза. Это указывает на возможность синергического воздействия смеси вакцинных штаммов вируса ИББ на иммунную систему птицы.

**Оценка протективной функции поствакцинального иммунитета.** На SPF-цыплятах в возрасте 15 суток провели параллельное исследование протективного действия вирусвакцин из штаммов «Винтерфилд 2512» (доза 1000 ЭИД<sub>50</sub>) и «БГ» (доза 100 ЭИД<sub>50</sub>) вируса ИББ, а также образцов полиштамдного препарата.

Через 14 суток после прививки по 15 голов от каждой группы птиц подвергали заражению вирулентным штаммом «52/70» вируса ИББ в дозе 1000 ЭИД<sub>50</sub>. В течение 10 суток после искусственного заражения у птиц два раза в сутки проводили клинический осмотр. Регистрировали клинические признаки ИББ и обусловленную возбудителем гибель птицы. Аналогичную операцию проводили на 21 сутки. Полученные результаты приведены в таблице 2.

Через 14 суток было установлено, что в группе «Винтерфилд 2512» заболеваемость составила 2/15, при этом одна заболевшая птица погибла. В группе «БГ» заболеваемость составила 1/15. Полиштамдный препарат полностью защитил птиц от инфекции вирулентного вируса. В контрольной группе все птицы заболели (15/15), при этом шесть погибли (6/15).

**Таблица 2 - Заболеваемость вакцинированных и не вакцинированных птиц вирусом ИББ после искусственного заражения через 14 и 21 сутки после иммунизации**

<b>Заболеваемость вакцинированных и невакцинированных птиц вирусом ИББ после искусственного заражения через 14 и 21 сутки после прививки</b>		
<b>Препарат</b>	<b>Время после иммунизации (сутки)</b>	
	14	21
Вирусвакцина из штамма «Винтерфилд 2512»	2/15**(1)***	0/15
Вирусвакцина из штамма штамм «БГ»	1/15	0/15
Полиштамдная вирусвакцина	0/15	0/15
Контроль*	15/15 (6)	15/15 (5)

Примечания:

\* - не иммунизированная птица;

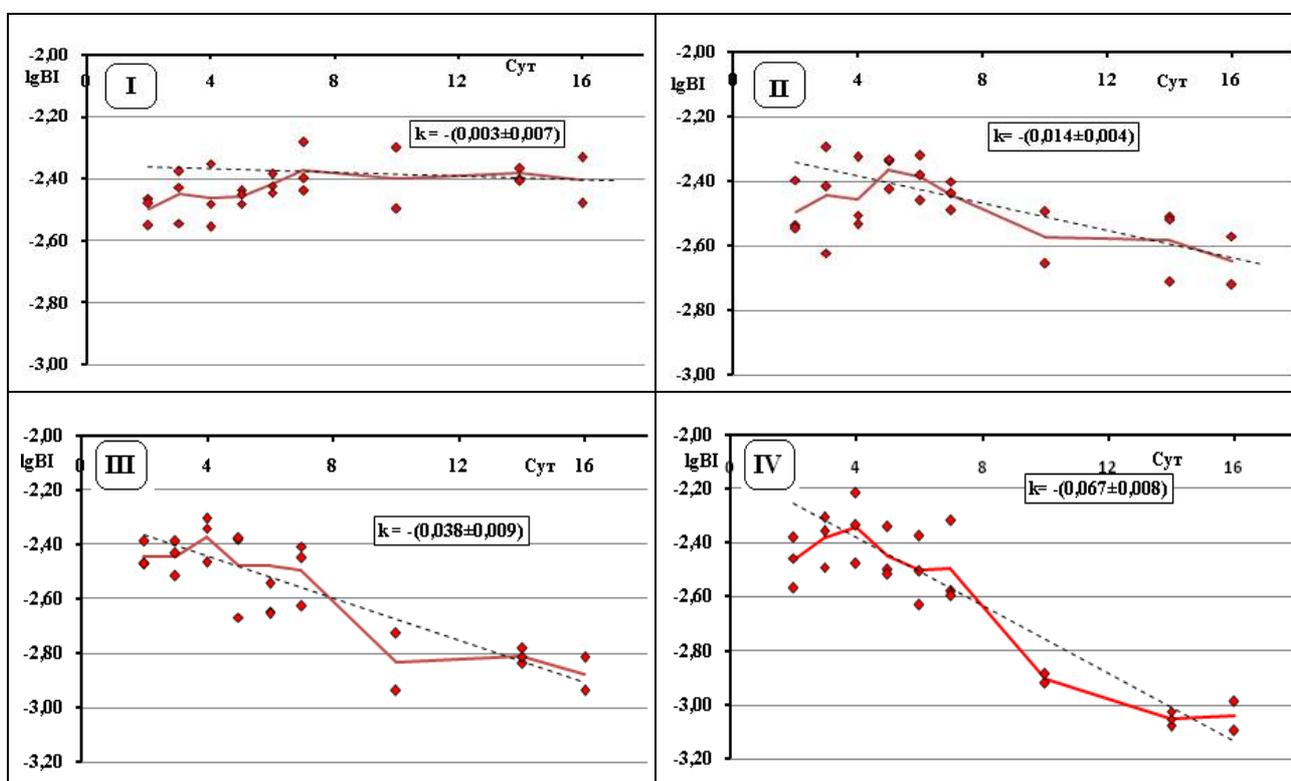
\*\* - в числителе - количество птиц, имеющих признаки ИББ; в знаменателе – общее число инфицированных птиц;

\*\*\* - в скобках указано количество павших птиц из числа заболевших.

Через 21 сутки во всех подопытных группах вакцинные препараты обеспечили полный протективный эффект. Заболеваемость и летальность в контрольной группе составили оценки 15/15 и 5/15, соответственно. Установили, что полиштамменный препарат, способен обеспечить более быстрый протективный эффект, чем составляющие его штаммы «Винтерфилд 2512» и «БГ», использованные в виде монопрепаратов.

**Разработка количественных показателей вирулентности штаммов вируса инфекционной бурсальной болезни.**

**Разработка относительного коэффициента атрофии бурсы.** Исследовали изменения фабрициевой сумки птиц (бурсы) в период клинического проявления ИББ. Определяли значения бурсальных индексов вида  $BI = W_1/W_0$ , где  $W_1$  – масса бурсы;  $W_0$  – масса цыпленка. Для удобства вычислений использовали логарифмы индексов ( $\lg BI$ ). Полученные результаты в виде диаграмм приведены на рисунке 4.



**Рисунок 4 - Логарифмические значения бурсальных индексов ( $\lg BI$ ), установленные у цыплят соответственно испытанному штамму вируса ИББ и времени после инфицирования (Сут), где: I – контроль (не инфицированные птицы); II –штамм «Винтерфилд 2512»; III - штамм «БГ»; IV - вирулентный штамм «52/70». Показаны: оценки индексов ( $\diamond$ ); средняя тенденция (непрерывная линия); регрессия индексов в диапазоне 7-16 суток (пунктир), регрессионный коэффициент и его стандартная ошибка ( $k \pm s$ )**

Приняли, что показателем повреждающего действия вируса может быть относительный коэффициент атрофии бурсы (R), установленный через 12 суток

после заражения на основе бурсальных индексов. Соответствующий расчет выполняли по формуле (2)

$$R=(K^+-K^-)-(S-K^-), \quad (2)$$

где:  $K^+$ - значение  $\lg BI$  у птиц, инфицированных заведомо известным вирулентным штаммом (положительный контроль);  $K^-$ -значение  $\lg BI$  у птиц, не подвергавшихся воздействию вируса (отрицательный контроль);  $S$ -значение  $\lg BI$  у птиц, привитых тестируемым вирусным штаммом.

Коэффициент  $R$  представляет собой логарифмическую величину доли ( $\text{antilg } R=C$ ) атрофического эффекта вирулентного штамма, которую фактически демонстрирует испытуемый штамм с учетом оценки отрицательного контроля. Таким образом, значение  $C$  показывает, насколько повреждающее действие испытуемого штамма приближается к вирулентному агенту (или превышает его).

Используя оценки  $\lg BI$ , установленные во всех подопытных группах птиц в период 10–16 суток после инфицирования, для штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» по формуле (2) получили соответствующие выборки  $R$ -коэффициентов, которые приведены в таблице 3.

**Таблица 3 - Относительные коэффициенты атрофии бursы ( $R^*$ ), установленные в период 10–16 суток после инфицирования птиц штаммами «Винтерфилд 2512» и «БГ»**

Сут	Бурсальные индексы ( $\lg BI$ ) соответственно группам птиц				Коэффициенты $R$ соответственно вирусвакцинам из штаммов «Винтерфилд 2512» (I) и «БГ» (II), а также их ранги ( $h$ )			
	Контроль ( $K^-$ )	«Винтер. 2512» (I)	«БГ» (II)	«52/70» ( $K^+$ )	$R_I$	$h_I$	$R_{II}$	$h_{II}$
10	-2,493	-2,650	-2,721	-2,915	-0,265	9	-0,194	12
10	-2,600	-2,489	-2,929	-2,892	-0,403	4	0,037	14
14	-2,401	-2,712	-2,783	-3,080	-0,367	5	-0,297	6
14	-2,366	-2,613	-2,835	-3,041	-0,428	3	-0,206	11
14	-2,406	-2,517	-2,812	-3,022	-0,505	2	-0,211	10
16	-2,477	-2,720	-2,937	-2,993	-0,272	7	-0,056	13
16	-2,330	-2,568	-2,813	-3,084	-0,516	1	-0,271	8
Результатирующие оценки (“ $R^{**}$ и $H^{***}$ ”)					-0,403	4,43	-0,206	10,57

Примечания:

\* -  $R = (K^+ - K^-) - (S - K^-)$ , где:  $K^+$  - значение  $\lg BI$  в группе, инфицированной вирулентным штаммом (положительный контроль);  $K^-$  - значение  $\lg BI$  в контрольной группе неинфицированных птиц (отрицательный контроль);  $S$  - значение  $\lg BI$  в группе испытуемого штамма.

\*\* - медиана выборки  $R$ -коэффициентов.

Результатирующие показатели реактогенности штаммов «Винтерфилд 2512» (I) и «БГ» (II) в виде медиан составили величины “ $R_I=(-0,403)$  и “ $R_{II}=(-0,206)$ . В размерности долей полученные оценки имели вид “ $C_I=\text{antilg}(-0,403)=0,395$  и

“ $C_{II} = \text{antilg}(-0,206) = 0,622$ . Биологический смысл приведенных показателей состоял в том, что степень повреждающего действия вируса вакцинных штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» относительно вирулентного варианта «52/70» составила 39,5% и 62,2%, соответственно.

Использованная система анализа позволила проводить объективное сравнение вирусных штаммов по критерию атрофии бурсы, при этом сама процедура была сведена к установлению существенности статистических различий в средних тенденциях выборок варьирующих значений R.

**Сравнение реактогенности штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ», а также смеси данных штаммов.** Эксперимент был построен по аналогии с предыдущим опытом. Изучаемые штаммы вируса испытывали в тех же дозах (ЭИД<sub>50</sub>). Вирусный материал вводили орально, в объеме 1 см<sup>3</sup>. У птиц два раза в сутки проводили клинический осмотр.

Через 12 суток после инфицирования (на фазе развития атрофического процесса) во всех группах определяли логарифмы бурсальных индексов (lgBI). В контрольных группах медианные оценки составили: ‘K<sup>-</sup> = - 2,451 и ‘K<sup>+</sup> = -2,954. В подопытных группах отдельно для каждой птицы по формуле (2) на основании индекса lgBI и медиан контролей рассчитывали коэффициент R. Таким образом, соответственно исследуемым вирусным материалам получили три выборки коэффициентов. Для проведения сравнительного анализа для каждой оценки R был определен ранг (порядковый номер по положению в общем упорядоченном ряду). Полученные результаты представлены в таблице 4.

Провели сравнительный анализ полученных коэффициентов. С этой целью использовали метод множественных сравнений Миллера (Холлендер М., 1983). Установили, что повреждающее действие изучаемых вирусных препаратов различалось. В составе монопрепарата штамм «БГ», имеющий показатель  $C_{БГ} = 0,640$ , с высокой достоверностью ( $\beta = (1-p) \times 100 \gg 99,9\%$ ) был более реактогенен, чем штамм «Винтерфилд 2512», который продемонстрировал оценку  $C_{Винт} = 0,399$ . Однако, присутствуя в полиштамнном препарате в такой же дозе, штамм «БГ» достоверно снизил ( $\beta > 95\%$ ) реактогенное действие. Показатель повреждающего эффекта смеси штаммов  $C_{Смесь} = 0,492$  был близок к средней величине между соответствующими оценками, которые были установлены для монопрепаратов. Статистических различий между оценками вирулентности штамма «Винтерфилд 2512» и смешанным препаратом установлено не было.

**Таблица 4 - Оценки реактогенности штаммов «Винтерфилд 2512», «БГ» и полиштаммного препарата**

	шт. «Винтерфилд 2512»	шт. «БГ»	Полиштаммный препарат
<b>R</b>	-0,266 <sub>31</sub> **	-0,192 <sub>42</sub>	-0,474 <sub>8</sub>
	-0,267 <sub>30</sub>	-0,201 <sub>39</sub>	-0,300 <sub>26</sub>
	-0,340 <sub>21</sub>	0,051 <sub>54</sub>	-0,395 <sub>17</sub>
	-0,393 <sub>18</sub>	-0,283 <sub>29</sub>	-0,498 <sub>6</sub>
	-0,505 <sub>5</sub>	-0,116 <sub>46</sub>	-0,366 <sub>20</sub>
	-0,524 <sub>3</sub>	-0,196 <sub>41</sub>	-0,054 <sub>51</sub>
	-0,566 <sub>1</sub>	-0,293 <sub>27</sub>	-0,431 <sub>11</sub>
	-0,313 <sub>24</sub>	-0,550 <sub>2</sub>	-0,112 <sub>48</sub>
	-0,431 <sub>11</sub>	-0,168 <sub>43</sub>	-0,405 <sub>15</sub>
	-0,512 <sub>4</sub>	-0,051 <sub>52</sub>	-0,018 <sub>53</sub>
	-0,420 <sub>14</sub>	-0,220 <sub>37</sub>	-0,431 <sub>11</sub>
	-0,493 <sub>7</sub>	-0,198 <sub>40</sub>	-0,255 <sub>33,5</sub>
	-0,286 <sub>28</sub>	-0,102 <sub>49</sub>	-0,255 <sub>33,5</sub>
	-0,329 <sub>22</sub>	-0,159 <sub>45</sub>	-0,241 <sub>35</sub>
	-0,441 <sub>9</sub>	-0,114 <sub>47</sub>	-0,161 <sub>44</sub>
	-0,403 <sub>16</sub>	-0,098 <sub>50</sub>	-0,266 <sub>32</sub>
	-0,388 <sub>19</sub>	-0,306 <sub>25</sub>	-0,428 <sub>13</sub>
-0,215 <sub>38</sub>	-0,221 <sub>36</sub>	-0,315 <sub>23</sub>	
<b>M<sub>R</sub>*</b>	<b>- 0,398 [(-0,441)÷(-0,313)]</b>	<b>-0,194 [(-0,221)÷(-0,114)]</b>	<b>-0,308 [(-0,428)÷(-0,255)]</b>
<b>C = antilg M<sub>R</sub></b>	<b>0,399 [0,362 ÷ 0,486]</b>	<b>0,640 [0,601÷0,769]</b>	<b>0,492 [0,373÷ 0,556]</b>

Примечания:

- \* - M<sub>R</sub> - медиана выборки и границы ее доверительного интервала (p=0,05);
- \*\* - ранг R-коэффициента (построчный шрифт).

**Оценка показателей относительной вирулентности полевых изолятов вируса ИБВ, образцов коммерческих вакцин, вакцинных штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ», а также смеси указанных штаммов.** Считали, что признаками (показателями) вирулентности вируса служат следующие среднегрупповые оценки: заболеваемость (представительство особей, демонстрирующих клиническое проявление заболевания), летальность (доля летальных исходов болезни, подтвержденных результатами патологоанатомических исследований) и повреждающее действие (средняя степень поражения бурсы как основного органа-мишени возбудителя).

В эксперименте для каждого тестируемого вирусного материала (j) по формуле (3) определяли показатель относительной заболеваемости ("I<sub>j</sub>).

$$"I_j = (I_j - I^-) / (I^+ - I^-), \quad (3)$$

где: I<sub>j</sub> - заболеваемость в j-той группе и в группах положительного (+) и отрицательного (-) контролей; I=C<sub>l</sub>/n, где C<sub>l</sub> – число клинически больных птиц, установленное в данной группе в течение эксперимента.

По аналогии с оценкой "I<sub>j</sub> в подопытных группах по формуле (4) определяли показатели относительной летальности ("L<sub>j</sub>).

$${}^{\circ}L_j = (L_j - L^-) / (L^+ - L^-), \quad (4)$$

где:  $L_j$  - летальность в  $j$ -той и в контрольных группах;  $L = M/n$ , где  $M$  – число птиц, павших в данной группе в течение эксперимента.

Через 12 суток после инфицирования во всех группах провели эвтаназию птиц и извлечение бурс. Определяли относительные коэффициенты атрофии бурсы ( ${}^{\circ}C_j$ ).

Показатели  ${}^{\circ}I$ ,  ${}^{\circ}L$  и  ${}^{\circ}C$  считали количественными характеристиками вирулентности штаммов вируса ИББ. При этом указанные величины рассматривали как взаимодополняющие и использовали их для вычисления комплексных оценок ( ${}^{\circ}V$ , %). Соответствующие расчеты выполняли по формуле (5).

$${}^{\circ}V_j = ({}^{\circ}I_j + {}^{\circ}L_j + {}^{\circ}C_j) / 3 \times 100, \quad (5)$$

Величина  ${}^{\circ}V_j$  представляет собой условную долю патологических изменений в организме птицы, которые произошли в связи с развитием заведомо патогенного вируса в положительном контроле. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Из данных таблицы 5 следует, что полученные соответственно тестируемых вирусных материалов оценки  ${}^{\circ}V$  имели очевидные различия. Это свидетельствует о том, что фенотипы исследуемых вирусных популяций по параметру вирулентности были не одинаковы. Предложенная система оценки относительной вирулентности позволила количественно охарактеризовать фенотипы исследуемых штаммов и пригодна для сравнения инфекционных вирусных материалов.

**Таблица 5 - Оценки относительной вирулентности ( ${}^{\circ}V$ , %) образцов вируса ИББ различного происхождения**

Образцы вируса (j)	${}^{\circ}V_j = ({}^{\circ}I_j + {}^{\circ}L_j + {}^{\circ}C_j) / 3 \times 100$			
	${}^{\circ}I$	${}^{\circ}L$	${}^{\circ}C$	${}^{\circ}V$ , %
Изолят «Z/Lub»	1	0,167	0,638	60,1
Изолят «G/Mar»	1	0,333	0,869	73,4
Изолят «S/Agr»	0,333	0	0,574	30,2
Вакцина «San»	0	0	0,379	12,6
Вакцина «Hir»	0	0	0,442	14,7
шт. «Винтерфилд 2512»	0	0	0,402	13,4
шт. «БГ»	0	0	0,459	15,3
Вакцина «Гамборомикс»	0	0	0,431	14,3

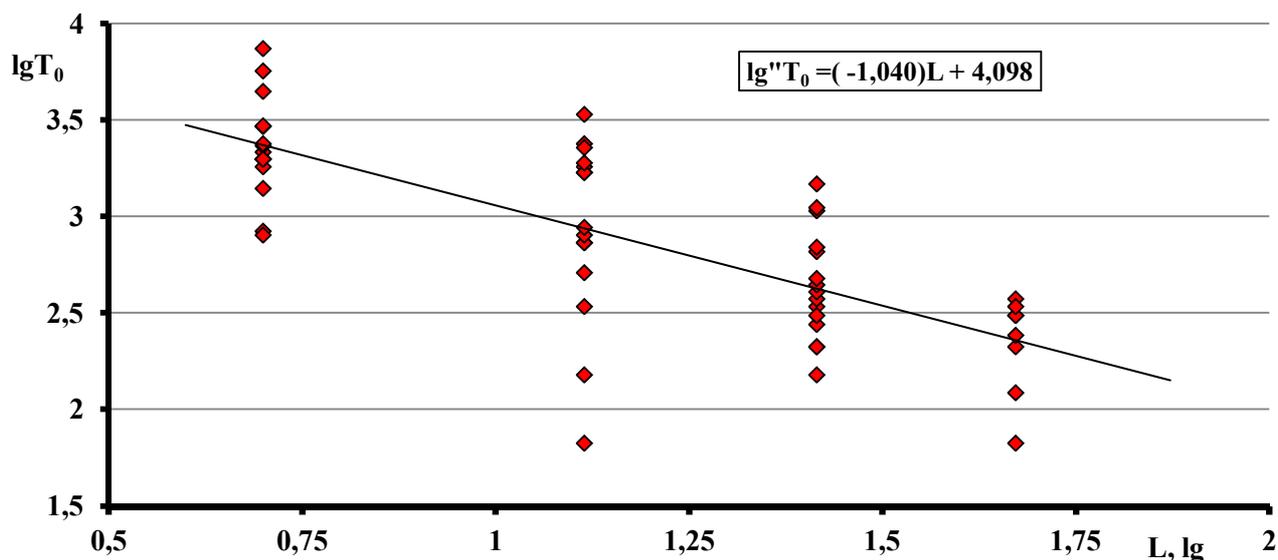
**Определение порогового титра трансовариальных антител, при котором полиштаммовая вакцина способна вызывать активную иммунную реакцию птицы.** Исследовали развитие активной поствакцинальной гуморальной иммунной реакции на фоне пассивного иммунитета птиц. В эксперименте использовали односуточных цыплят кросса «Хай-Лайн», обладающих трансовариальными антителами к вирусу ИББ. Сформировали три опытные группы птиц (по 15 голов в

каждой, где каждую особь индивидуально промаркировали) и одну контрольную группу (8 голов). Группы содержали в изолированных боксах. Вакцинацию проводили по группам птиц через заданные интервалы времени. Группы обозначили соответственно возрасту птиц в сутках (i), когда они были вакцинированы: 5; 13; 26. Контрольную группу (К) не вакцинировали.

Птиц прививали полиштамменной вакциной, содержащей в одной прививной дозе 1000 ЭИД<sub>50</sub> штамма «Винтерфилд 2512» и 100 ЭИД<sub>50</sub> штамма «БГ». Препарат выпаивали в объеме 1 см<sup>3</sup> пипеткой-дозатором.

В каждой возрастной группе определяли титр сывороточных антител до вакцинации (T<sub>0.i</sub>), то есть титр трансвариальных (пассивных) антител на день прививки а, далее, через 14 суток после иммунизации, оценивали титр активных антител (T<sub>14.i</sub>). В контрольной группе отбор проб сывороток производили в последний день эксперимента (возраст птиц 47 суток).

Исследовали хронологические изменения титров трансвариальных антител. Строили модель связи между возрастом птицы в сутках (независимый параметр) и



**Рисунок 5 – Оценки титров трансвариальных антител (lgT<sub>0</sub>) к вирусу ИББ, установленных соответственно возрасту птиц (L=lg(сут))**

Примечание: показана регрессионная модель вида  $lg''T_0 = (-1,040)L + 4,098$ , где:  $lg''T_0$  –ожидаемая величина титра соответственно заданному значению L; (-1,040) – регрессионный коэффициент ( $(lg''T_0)/L$ ); 4,098 – параметр положения линии регрессии по ординате.

По способу наименьших квадратов была построена регрессионная модель вида (6)

$$lg''T_0 = (-1,040)L + 4,098, \quad (6)$$

где:  $lg''T_0$  –ожидаемая величина титра соответственно заданному значению L; (-1,040) – регрессионный коэффициент ( $(lg''T_0)/L$ ); 4,098 – параметр положения линии регрессии по ординате.

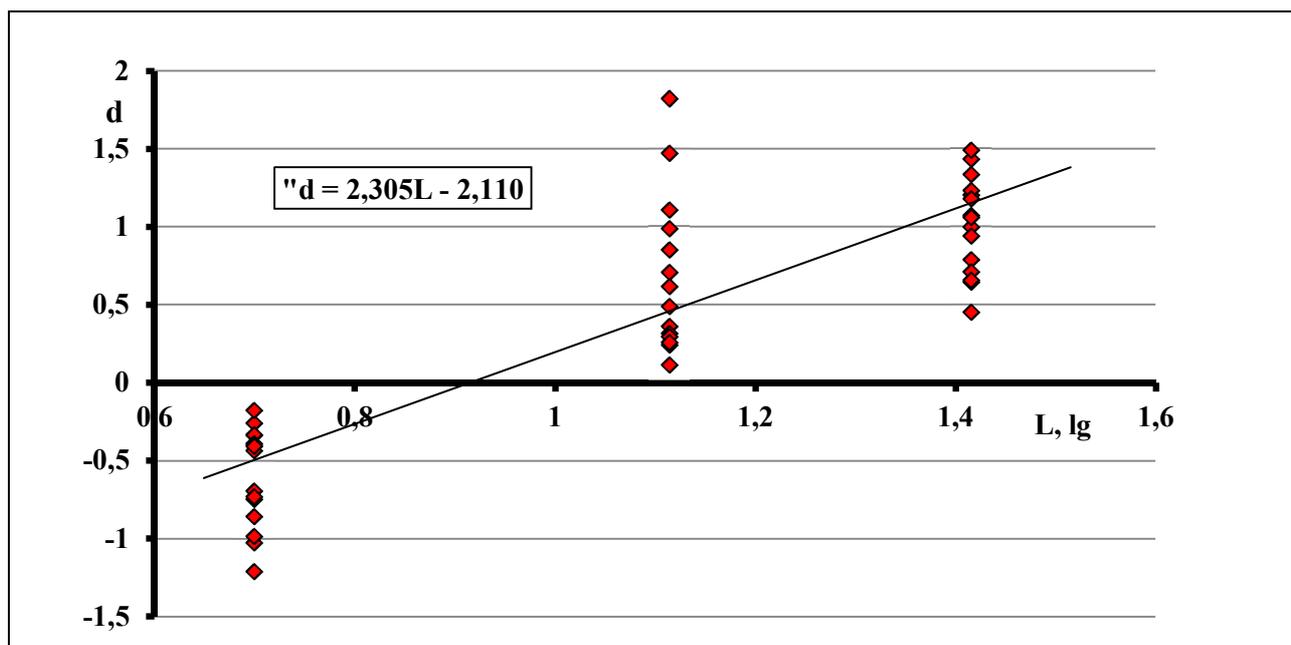
Построенная модель (5) позволяла прогнозировать среднюю величину титра трансвариальных антител ( $\lg T_0$ ) соответственно возрасту цыплят до проведения вакцинации.

Определяли возраст цыплят, при котором происходил прирост показателя титра. С этой целью во всех подопытных группах вычисляли оценки прироста титра вида (7)

$$d_i = \lg T_{14.i} - \lg T_{0.i}, \quad (7)$$

Далее исследовали связь между логарифмическими показателями возраста птиц ( $L = \lg(\text{сут})$ ) и установленными значениями  $d$ . Строили соответствующую модель связи. Полученные результаты представлены в виде диаграммы на рисунке 6.

Представленные на рисунке 6 данные, демонстрировали выраженную зависимость показателя  $d$  от величины  $L$ , то есть возраст птиц значимо влиял на величину отклонения титра антител после прививки полиштаммным препаратом. Коэффициент корреляции составил  $R \pm s = 0,857 \pm 0,128$ , что свидетельствовало о высокой положительной связи исследуемых параметров.



**Рисунок 6 - Показатели отклонений (d) титров антител соответственно возрасту цыплят, где  $d_i = \lg T_{14} - \lg T_0$ ;  $T_{14}$  – величина титра через 14 суток после прививки;  $T_0$  – титр трансвариальных антител;  $L = \lg(\text{сутки})$**

Примечание: показана регрессионная модель вида  $d = 2,305L - 2,110$ , где:  $d$  – ожидаемая величина отклонения титра соответственно заданному значению  $L$ ; 2,305 – регрессионный коэффициент ( $d/L$ ); 2,110 – параметр положения линии регрессии по ординате.

На этом основании считали возможным для дальнейшего анализа использовать построенное регрессионное уравнение (8):

$$"d = 2,305L - 2,110, \quad (8)$$

где: "d – ожидаемая величина отклонения титра соответственно заданному значению L; 2,305 – регрессионный коэффициент ("d/L); 2,110 – ордината линии регрессии.

Уравнение (7) позволило определить ожидаемый возраст птицы ( $\text{antilg}("L)$ ), после которого показатель отклонения титра приобретает положительное значение (т.е. "d > 0). Искомая величина численно соответствовала точке пересечения оси абсцисс и построенной линии регрессии. Соответствующее значение составило "L =  $2,110/2,305 = 0,915$ , или  $\text{antilg}("L) = 8,23$  суток. Полученная оценка была рассмотрена как минимальный ожидаемый возраст птицы, при котором на фоне трансвариального иммунитета была возможна активная иммунная реакция.

Далее, по уравнению (8), произвели расчет прогнозируемой величины порогового титра пассивных антител, при котором полиштамтная вирусвакцина способна у цыпленка индуцировать активную иммунную реакцию. Искомая величина составила  $\lg "T_0 = (-1,040)0,915 + 4,098 = 3,146$ , или  $"T_0 = \text{antilg } 3,146 = 1400$ . Статистическая неопределенность полученной логарифмической оценки (стандартная ошибка модели) имела значение  $\pm 0,1 \lg$ , что соответствовало положению прогнозируемой оценке титра в границах  $1112 \leq "T_0 \leq 1762$ .

**Оценка иммунодепрессивного действия полиштамтной вирусвакцины и составляющих ее штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ».** Исследование иммунодепрессивного действия вакцинных штаммов ИББ проводили согласно «Руководству МЭБ по стандартам для диагностических тестов и вакцин» [Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 2019, Chapter 3.3.12.- Infectious bursal disease]. Согласно принятому положению показателем эффекта иммунодепрессии в результате воздействия вируса ИББ является снижение гуморальной иммунной реакции птицы на вакцину против болезни Ньюкасла.

Анализировали титры антител к вирусу ИББ в сыворотках крови взятых у птиц через 21 сутки после прививки вирусвакцинами «Винтерфилд 2512», «БГ», и полиштамтным препаратом, а также в группе контроля. Установили, что во всех подопытных группах вакцинный вирус обусловил полноценный иммунный ответ. Контрольная группа иммунитетом к вирусу ИББ не обладала.

Через 21 сутки после прививки препаратами против ИББ все птицы в подопытных и в контрольной группах были вакцинированы против болезни Ньюкасла (БН). Использовали вакцину из штамма «Ла-Сота» согласно инструкции. Через 14 суток после прививки против ИББ птицы во всех группах были пронумерованы. У всех птиц отобрали пробы крови и в РТГА определили титр ( $T_{\text{ser}}$ ) сывороточных антител к вирусу ИББ. Пробы, имеющие одинаковые номера (j) в контрольной и опытных группах, считали парными. В качестве оценки иммунодепрессии приняли величину отклонения титра от контроля, которую вычисляли для каждой пары ( $\Delta_j = T_{j0} - T_j$ , где  $T_{j0}$  и  $T_j$  - значения парных титров в

контроле и в опытной группе, соответственно). Было показано, что искомый эффект в виде изменения титров сывороточных антител к вирусу болезни Ньюкасла не был статистически достоверен.

**Стабильность инфекционной активности полиштаммной вирусвакцины при хранении.** Лиофилизированный препарат содержали в холодильной камере при температуре  $2 \div 8^{\circ}\text{C}$ . Через каждые 3 месяца определяли инфекционный титр вируса. Сравнивали величину исходного инфекционного титра ( $T_{\text{inf},0}$ ) и значение титра через заданный интервал времени ( $T_{\text{inf},j}$ ). Оценкой сохранения инфекционной активности вируса считали логарифмическую разность вида  $\Delta_j = \lg T_{\text{inf},0} - \lg T_{\text{inf},j}$ . Временной интервал, по завершении которого, значение  $\Delta_j$  превосходило величину удвоенного стандартного отклонения  $\lg T_{\text{inf},0}$  считали критическим сроком сохранения биологической активности препарата. Установили, что срок годности «Вирусвакцины против инфекционной бурсальной болезни «Гамборомикс» живой сухой при хранении при температуре  $(2 \div 8)^{\circ}\text{C}$ , может составлять не менее 18 месяцев.

## 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### 4.1 Выводы

1. В качестве активной субстанции вирусвакцины против ИББ «Гамборомикс» предложен иммуногенный компонент, представляющий собой комбинацию аттенуированных производственных штаммов вируса Гамборо «Винтерфилд 2512» и «БГ», которые в заданном соотношении демонстрируют признаки синергического действия по индукции гуморальной иммунной реакции птицы.

2. Вирусвакцина «Гамборомикс» через 14 суток после применения способна создать протективный уровень иммунитета, обеспечивающий защиту от инфекции полевым вирусом ИББ не менее чем у 95% вакцинированных птиц. Средняя величина титра антител индуцированных вакциной «Гамборомикс» на 14 сутки после прививки достигала оценки 1:5128 в ИФА (набор «Zoetis»). При этом аналогичные оценки, установленные для монопрепаратов из штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» вируса ИББ составили 1:2238 и 1:2691, соответственно.

3. Вирусвакцина «Гамборомикс» показала низкую реактогенность. На завершающей стадии развития вакцинного вируса в организме птицы оценка относительного показателя атрофии бursy после применения вирусвакцины «Гамборомикс» соответствующая величина составила  $\%V_{\text{Гамборомикс}} = 14,3\%$ . Аналогичные оценки относительной вирулентности в монопрепаратах составили  $\%V_{\text{БГ}} = 15,3\%$  и  $\%V_{\text{Винтерфилд 2512}} = 13,4\%$ .

4. Для вирусвакцины «Гамборомикс» определен пороговый титр трансвариальных антител ( $\lg T_0 = 3,146$ , или  $T_0 = \text{antilg } 3,146 = 1:1400$ ), при котором составляющие препарат вирусные штаммы способны индуцировать

активный иммунитет у птицы. В рамках стандартной ошибки измерения экспериментально установленная величина титра находилась в границах  $1112 \leq T_0 \leq 1762$ , что позволяло определить точное время (возраст птицы) для проведения вакцинации и предотвратить нейтрализацию вакцинного вируса в организме птицы, обладающей большей напряженностью трансовариального иммунитета.

5. При оценке иммуносупрессии величина отклонения титра антител к вирусу ньюкаслской болезни от контроля у птиц, вакцинированных препаратом «Гамборомикс», составила в среднем  $(0,226 \pm 0,301)$  и не обладала статистической значимостью. Таким образом было доказано, что вирусвакцина «Гамборомикс» оказывала незначительное иммуносупрессивное действие.

6. Вирусвакцина «Гамборомикс» при температуре не выше  $8^{\circ}\text{C}$  сохраняла инфекционную активность до 18 месяцев. При дальнейшем хранении соотношение между исходным и текущим значениями инфекционных титров превосходило величину  $2S_0$  (удвоенного стандартного отклонения). На этом основании приняли, что критическим сроком хранения препарата следует считать период 18 месяцев.

#### 4.2 Практические предложения

По аналогии с вирусвакциной «Гамборомикс», представляет интерес использования комбинаций из других штаммов вируса для создания новых препаратов против ИББ.

Продолжить изучение оценок вирулентности других штаммов и изолятов вируса ИББ на основе относительных коэффициентов летальности и атрофии бурсы с использованием эпизоотологических и гистологических методик.

#### 4.3 Перспективы дальнейшей разработки темы

Представляется целесообразным исследовать возможность использования комбинации штаммов «Винтерфилд 2512» и «БГ» при создании вирусвакцин.

Продолжить разработку оценки вирулентности штаммов вируса ИББ на основе относительных коэффициентов летальности и атрофии бурсы с использованием гистологических и эпизоотологических методик.

### 5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка атрофии фабрициевой сумки птиц в результате воздействия различных штаммов вируса Гамборо / А.А. Пяткина, **Т.Н. Зыбина**, Н.В. Мороз, В.Ю. Кулаков // Ветеринарная патология. - 2017. - № 2. - С. 24-32.

2. Проблема болезни Гамборо и ее решение посредством комбинированной вирусвакцины / Н.В. Мороз, **Т.Н. Зыбина**, А.А. Пяткина, В.Ю. Кулаков // БИО. - 2018. - № 9. - С. 8-10.

3. Определение порогового титра трансовариальных антител для применения вирусвакцины Гамборомикс / **Т.Н. Зыбина**, А.А. Пяткина, В.Ю. Кулаков, Н.В. Мороз, О.Ю. Копоть // Ветеринария. - 2019. - № 2. - С. 55-61.

4. Валидация метода оценки вирулентности штаммов и изолятов вируса инфекционной бурсальной болезни с использованием относительных коэффициентов атрофии фабрициевой сумки / В.Ю. Кулаков, **Т.Н. Зыбина**, А.А. Пяткина, Н.В. Мороз // Птицеводство. - 2019. - № 7-8. - С. 79-82.

5. Биологические свойства изолятов вируса инфекционной бурсальной болезни, выделенных на территории РФ в период 2017-2019 гг / **Т.Н. Зыбина**, А.А. Пяткина, Н.В. Мороз [и др.] // Ветеринарная патология. - 2020. - №3. - С. 22-29.

---

Подписано в печать 06.04. 2021г.

Формат 60×90 1/16. Усл. печ. л. 1.

Тираж 80 экз

Отпечатано на полиграфической базе ФГБУ  
«Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)»