

УДК 636.03

Научная статья



DOI: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-68-73

Т.Н. Рождественская^{1,2}, ✉
Л. Каримова³,
С.В. Панкратов⁴,
А.В. Рузина^{1,2},
Е.В. Томина¹

¹ Научно-производственное предприятие «АВИВАК», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

³ Seppic SA, Париж, Франция

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация

✉ 80957434274@mail.ru

Поступила в редакцию:
08.07.2022

Одобрена после рецензирования:
02.08.2022

Принята к публикации:
22.08.2022

Research article



DOI: 10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-68-73

Tatyana N. Rozhdestvenskaya^{1,2}, ✉
Liliya Karimova³,
Sergei V. Pankratov⁴,
Anna V. Ruzina^{1,2},
Elena V. Tomina¹

¹ Scientific Production Enterprise "AVIVAC", St. Petersburg, Russian Federation

² 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

³ Seppic SA, Paris, France

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

✉ 80957434274@mail.ru

Received by the editorial office:
07.08.2022

Accepted in revised:
02.08.2022

Accepted for publication:
22.08.2022

Современные подходы к изготовлению инактивированных вакцин против пастереллеза птиц

РЕЗЮМЕ

Введение. Пастереллез — одна из наиболее опасных инфекционных болезней птиц, наносящая 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 формы 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, встает проблема их остаточной реактогенности. 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* шт. 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-суточного 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, вне зависимости от вида адъюванта, более выраженные остаточные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу, нежели при подкожном введении в область средней трети шеи.

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

Для цитирования: Рождественская Т.Н., Каримова Л., Панкратов С.В., Рузина А.В., Томина Е.В. Современные подходы к изготовлению инактивированных вакцин против пастереллеза птиц. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-68-73>

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

Modern approaches to the production of inactivated vaccines against chicken cholera

ABSTRACT

Introduction. Chicken cholera is one of the most dangerous avian infectious diseases, causing significant economic damage to the industrial poultry production. Chicken cholera 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 chicken cholera 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 chicken cholera, based on different adjuvants.

Materials and methods. Formaldehyde inactivated culture of *P. multocida* st. 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 30-days old chickens of egg-laying type.

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: chicken cholera, 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 chicken cholera. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-68-73> (In Russian).

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

Введение/Introduction

Пастереллез — одна из наиболее опасных инфекционных болезней, наносящая 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 проявлениями данной инфекции [5, 6]. После переболевания 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 × 0,6–2,5 мкм). Бактерии *P. multocida* той или иной морфологической формы колоний различаются по вирулентным, иммуногенным и антигенным свойствам. Исследования, проведенные во многих странах мира, свидетельствуют о значительной вариативности вирулентных свойств *P. multocida*, разнообразии сероваров возбудителя, антигенности и токсичности их, что создает значительные сложности для рационального применения 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 вирулентной) 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), которые 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 из них — 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 малоэффективны [21].

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

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 адъювантов [25].

Наряду с эффективностью инактивированных вакцин, изготовленных на основе масляных адъювантов,

обеспечивающих более высокий и длительный иммунитет, особенно у бактериальных вариантов, существует проблема их остаточной реактогенности, которую можно решить с помощью подбора более безопасных масляных адъювантов нового поколения.

Правильно подобранный адъювант 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 адъюванты производства компании «SEPPIC».

Вакцины на основе адъювантов «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 адъювантов, образующих эмульсии «вода в масле» или двойные эмульсии «вода в масле в воде», MONTANIDE™ ISA. Адъюванты «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 адъювантов, «SEPPIC» также рекомендует использовать в вакцинах для птиц адъюванты линейки «Montenide GEL», представляющие собой дисперсию высокостабильных гелевых частиц полиакрилата натрия в воде. Вакцины получают простым перемешиванием адъювантов «Gel» 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 вышеизложенного, 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 адъювантов «SEPPIC», для определения наиболее иммуногенного и наименее реактогенного образца вакцины, а также определить оптимальный прививной объем и метод введения испытываемых инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, обеспечивающий наибольшие иммуногенные и наименьшие реактогенные свойства вакцин.

Материалы и методы/Materials and methods

Для изготовления образцов инактивированных вакцин использовали инактивированную формальдегидом культуру *P. multocida* шт. 115 и ряд адъювантов («Montanide GEL-02» и масляные адъюванты «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 адъюванта и антигена при помощи магнитной мешалки.

Все образцы вакцин были проверены на стерильность согласно общепринятым методам. Образцы №

1–4 дополнительно были проверены на стабильность и вязкость эмульсии.

Определение реактогенности и антигенной активности вакцин проводили на молодняке кур яичного направления 30-суточного 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 групп 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 групп — 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 групп — образцами № 2 и 4 соответственно в объеме 0,6 см³ подкожно в область нижней трети шеи.

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

Степень реактогенности образцов вакцин оценивали по четырехбалльной 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 × 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 11–18-й групп вакцинировали определенным методом и образцом вакцины. Птицы 11-й и 12-й групп 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 групп — образцом № 3 в объеме 0,5 см³ подкожно в область нижней трети шеи и внутри-

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

№ образца/ Sample №	Наименование адъюванта / Adjuvant	Соотношение адъюванта 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

мышечно 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 групп — образцами № 2 и 4 соответственно в объеме 0,3 см³ подкожно в область нижней трети шеи.

Птиц 19-й группы не вакцинировали — они составляли 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 –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 диагностикума (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 отвечали требованиям классу подобных препаратов.

Образец вакцины № 5 представлял собой стерильную однородную полупрозрачную жидкость в виде суспензии с относительной вязкостью 1 мм²/с и также полностью отвечал допустимым параметрам препаратов подобного класса.

При определении реактогенности образцов было выявлено, что все образцы вакцин, как при введении подкожно в среднюю треть шеи, так и при введении вну-

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

№ группы птиц / Group no.	Вакцина / Vaccine			Среднегеометрический группы (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

тримышечно в грудную мышцу, были ареактогенны или обладали в той или иной степени остаточной реактогенностью. При этом следует отметить, что все образцы, вне зависимости от вида адъюванта, более выраженные остаточные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу, нежели 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, и образцы 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 низкочисленных (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 неодинаковые 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 имел слабopоложительное значение — 727. Полученные данные указывают на проявление более выраженной антигенной активности образца вакцины № 1 при введении его подкожно в область средней трети шеи, нежели 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 при введении его подкожно в область шеи 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 образы вакцин № 1 и 2, изготовленные на основе адьюванта «Montanide ISA 70 VG», спустя 28 сут. после применения индуцировали у птиц выработку антител на уровне 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 птиц 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 вышеиспытанных 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, изготовленных на аналогичных адьювантах, содержащих 1,5 млрд микробных клеток одной иммунизирующей дозе объемом 0,5 см³.

Полученные результаты антигенной активности вакцин позволяют заключить, что антиген *P. multocida* в концентрации 1,5 млрд микробных клеток в одной иммунизирующей дозе вакцины, изготовленной как на основе адьюванта «Montanide ISA 70 VG», так и на основе «Montanide ISA-78 VG», проявляет более выраженную антигенную активность в прививном объеме 0,3 см³, нежели в объеме 0,5 см³.

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

При оценке реактогенности было очевидно, что все образцы, вне зависимости 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 птиц. В сб.: *Болезни птиц. сборник статей*. 2020: 148-150.
2. Корочкин Р. Пастереллез, 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.
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.

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., Щербак А.В. Генотипология 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 гиалуронидазной 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. Кэлек Б.У., Барнс Х.Дж., Биэрда Ч.У., Макдугалд 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 гемифилеза птиц. *Ветеринария, зоотехника и биотехнология*. 2020; 11: 23-27 (DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202011004)
25. Nikitin G., Pankratov S., Sukhinin A., Prihod'ko E., Rozhdestvenskaya T., Ruzina A. Adjuvants for inactivated vaccine against avibacterium paragalinarum. *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.
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. Malik E.V., Malik N.I., Guleichik I.A., Chupakhina N.A., Malenkova L.A., Samokhvalova N.S. 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. Malik E.V., Malenkova L.A., Malik N.I., Rusanov I.A., Prasolova O.V. Phenotyping of strains and isolates of *P. multocida* by capsular groups in hyaluronidase and acriflavin 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. Borisenкова 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*. M., 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., Prihod'ko E., Rozhdestvenskaya T., Ruzina A. Adjuvants for inactivated vaccine against avibacterium paragalinarum. *FASEB Journal*. 2022; T. 36. — № S1. (DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3128)
26. Lakin G.F. Biometrics // M.: «High School». — 1990. — 352 c. (In Russian)

ОБ АВТОРАХ:

Татьяна Николаевна Рождественская^{1,2}, д.в.н., заведующий лабораторией болезней птиц
¹ «Научно-производственное предприятие «АВИВАК» (ООО «НПП «АВИВАК»), Промзона Орлинская зона, 21, литер А, Ленинградская область, Ломоносовский район, д. Горбунки, 188502, Российская Федерация
² 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
<https://orcid.org/0000-0003-1272-8202>
 E-mail: 80957434274@mail.ru

Лилия Каримова, к.х.н., директор по развитию бизнеса в России и странах СНГ
 Seppic SA, Париж, Франция; офис SEPPIC в России: 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
<https://orcid.org/0000-0001-6824-1503>
 E-mail: 2000step@mail.ru

Анна Владимировна Рузина, научный сотрудник лаборатории болезней птиц
¹ «Научно-производственное предприятие «АВИВАК» (ООО «НПП «АВИВАК»), Промзона Орлинская зона, 21, литер А, Ленинградская область, Ломоносовский район, д. Горбунки, 188502, Российская Федерация
² 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
<https://orcid.org/0000-0001-8161-1716>
 E-mail: a.ruzina@avivac.com

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
<https://orcid.org/0000-0001-7351-1184>
 E-mail: info@avivac.com

ABOUT THE AUTHORS:

Tatyana Nikolaevna Rozhdestvenskaya^{1,2}, Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Avian Diseases
¹ Limited Liability Company "Scientific-Production Enterprise "AVIVAC" ("NPP "AVIVAC"), Industrial zone Orlinskaya zone, 21, letter A, Leningrad region, Lomonosovsky district, village Gorbunki, 188502, Russian Federation
² 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
<https://orcid.org/0000-0003-1272-8202>
 E-mail: 80957434274@mail.ru

Liliya Karimova, Candidate of Chemical Sciences, Director of Business Development in Russia and CIS
 Seppic SA, Paris, France; SEPPIC office in Russia: Kosmodamiyanskaya nab., d. 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
<https://orcid.org/0000-0001-6824-1503>
 E-mail: 2000step@mail.ru

Anna Vladimirovna Ruzina, Researcher at the laboratory of avian diseases
¹ Limited Liability Company "Scientific-Production Enterprise "AVIVAC" ("NPP "AVIVAC"), Industrial zone Orlinskaya zone, 21, letter A, Leningrad region, Lomonosovsky district, village Gorbunki, 188502, Russian Federation
² 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
<https://orcid.org/0000-0001-8161-1716>
 E-mail: a.ruzina@avivac.com

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