

На правах рукописи

Панкратов Сергей Вячеславович

**РАЗРАБОТКА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ПТИЦ, ПРОТЕКАЮЩИХ С ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ
РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2025

Работа выполнена в ООО «Научно-производственное предприятие «АВИВАК» и на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВО СПбГУВМ).

Научный консультант: **Рождественская Татьяна Николаевна,**
доктор ветеринарных наук

Официальные оппоненты: **Забережный Алексей Дмитриевич,**
член-корреспондент РАН, доктор биологических наук,
профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-
исследовательский и технологический институт
биологической промышленности» (ФГБНУ ВНИТИБП),
директор

Литвинов Олег Борисович,
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА
имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА),
профессор кафедры иммунологии и биотехнологии

Волков Михаил Сергеевич,
доктор ветеринарных наук, доцент,
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья
животных» (ФГБУ ВНИИЗЖ), руководитель Лабораторно-
диагностического центра, и.о. заведующего лабораторией
эпизоотологии и мониторинга

Ведущая организация: ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и
стандартизации лекарственных средств для животных и
кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

Защита диссертации состоится «02» октября 2025 г., в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.01 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5, тел./факс: (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5 и на официальном сайте: <https://spbguvm.ru>.

Автореферат разослан «__» 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время без узкой специализации птицеводческой отрасли, содержания поголовья в пределах ограниченного пространства, а также использования полученных в результате длительной селекционной работы гибридных кроссов птиц, обладающих высокой продуктивностью, не представляется возможным обеспечить население нашей страны необходимым количеством яиц и мяса птицы, которые являются социально значимыми диетическими продуктами и необходимы для здорового питания людей (Горелик О.В. и др., 2020; Фисинин В.И., 2023).

Такой подход к организации современного птицеводства параллельно с использованием интенсивных технологий выращивания и высокими показателями продуктивности приводит к снижению естественной резистентности и повышенной восприимчивости птиц к различным инфекционным болезням, в том числе и бактериальной этиологии (Рождественская Т.Н. и др., 2020).

Возникновение в птицеводческих хозяйствах бактериальных болезней приводит к значительному экономическому ущербу из-за повышенного падежа и выбраковки птиц, снижению мясной и яичной продуктивности, ухудшению биологических качеств эмбрионов и, как следствие, выводимости цыплят, понижению конверсии корма, увеличению затрат на проведение оздоровительных мероприятий. Кроме того, наличие бактериальных болезней приводит к снижению поствакцинального противовирусного иммунитета, повышению чувствительности птиц к стрессам и развитию ассоциированных форм течения инфекций (Фисинин В. И., 2008; Petersen A. и др., 2014; Рождественская Т.Н., 2019; Семина А.Н., 2020).

При ассоциированных инфекциях у птиц наблюдают разнообразие клинических признаков и, в первую очередь, проявление респираторного синдрома, который характеризуется поражением органов дыхания (синуситы, конъюнктивиты, ларингиты, трахеиты, бронхиты, пневмонии и аэросаккулиты) и отеком тканей в области подглазничных синусов, межчелюстного пространства и сережек (Цахаева Р.О. и др., 2020; Новичкова Е. М., 2022; Yehia N. и др., 2023; Al-Natour M.Q. и др., 2024).

Среди инфекционных болезней птиц, протекающих с проявлением респираторного синдрома, значительный процент составляют болезни бактериальной этиологии, к которым в первую очередь относят гемофилез, пастереллез, орнитобактериоз и респираторный микоплазмоз (Новикова О. и др., 2019; Рождественская Т.Н. и др., 2020; Потехин А.В. и др., 2020; Лыско С.Б. и др., 2021).

Также необходимо отметить, что проблему бактериальных болезней птиц в промышленном птицеводстве следует рассматривать не только в ветеринарном аспекте, но и в медико-экологическом, так как сельскохозяйственные птицы могут быть носителями патогенных для людей микроорганизмов, основные из которых представлены родами *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Clostridium* и др. (Бияшев Б.К. и др., 2021; Raut R. и др., 2023).

В основном для борьбы и предупреждения большинства бактериальных болезней проводят антимикробную терапию и вакцинопрофилактику (Борисенкова А.Н. и др., 2015). Однако бессистемное применение антимикробных препаратов без учета чувствительности патогенов к лекарственным средствам зачастую не позволяет добиться желаемых результатов (Furian T.Q. и др., 2016; Tan M.F. и др., 2023; Голубчикова О.А. и др. 2023; Плешакова В.И. и др., 2024), в то время как использование правильно подобранной вакцины с учетом эпизоотологической ситуации в хозяйстве и лабораторных исследований является одним из безопасных и эффективных инструментов контроля болезней бактериальной этиологии (Новикова А.Ф. и др., 2018; Mostaan S. и др., 2020; Kanci Condello A. и др., 2020; Рождественская Т.Н. и др., 2022; Mei Ch. и др., 2023).

На территории РФ зарегистрирован довольно широкий спектр инактивированных вакцин против бактериальных болезней птиц: это инактивированные вакцины против сальмонеллеза, пастереллеза, орнитобактериоза, гемофилеза, колибактериоза и респираторного микоплазмоза птиц. Однако на сегодняшний момент наряду с достигнутыми положительными результатами эффективности применения противобактериальных инактивированных вакцин в промышленном птицеводстве все еще существует проблема их остаточной реактогенности (Колотилов А.Н. и др. 2006; Воронина М.С., 2021; Гулюкин А.М. и др., 2023). Поэтому создание инновационных отечественных и усовершенствование выпускаемых иммунобиологических препаратов для профилактики инфекционных болезней птиц бактериальной этиологии являются на текущий момент развития птицеводческой отрасли объективной целесообразностью и актуальным вопросом.

Степень разработанности темы исследования. В России применяется довольно большой ассортимент вакцинальных препаратов, которые дают возможность обеспечить эффективный контроль инфекционных болезней животных. Существенную долю этих препаратов занимают вакцины импортного производства, что в свете текущей геополитической обстановки настоятельно подчеркивает потребность в производстве качественных аналогов внутри страны

(Петрова О.Г., 2019; Привалова Д.А. и др., 2022; Косов М.Е. и др., 2023).

На совещании по импортозамещению в Федеральном центре охраны здоровья животных Россельхознадзора (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), состоявшемся 13 мая 2022 года, руководитель Россельхознадзора С.А. Данкверт отметил следующее: «Стоит акцентировать внимание на важности снижения зависимости российских сельхозпроизводителей от иммунобиологических препаратов зарубежного производства. Примечательно, что на начало 2022 года в России для вакцинации крупного рогатого скота применялось более 70% отечественных вакцин, для вакцинации свиней использовалось 53% отечественных вакцин, а для вакцинации птиц – 43%. При этом у многих зарубежных вакцин есть аналоги российского производства» (Макеева Ю., 2022).

Ещё в конце минувшего века в нашей стране эффективные инактивированные противобактериальные вакцины для птиц не были разработаны. Исключением была только инактивированная вакцина против пастереллёза птиц, изготовленная с использованием в качестве адьюванта геля гидроксида алюминия (Заерко В.И., 1998; Рождественская Т.Н., 2011).

В последние десятилетия были проведены опытно-конструкторские работы, направленные на создание промышленных технологий изготовления инактивированных вакцин против ряда бактериальных болезней птиц с использованием инновационных масляных адьювантов, которые широко и успешно применяют в птицеводческих хозяйствах России и зарубежных стран (Румянцев А.М. и др, 2021; Ghadimipour R., и др. 2021; Marouf S. и др., 2022; Гусев А.А. и др. 2023).

Наряду с эффективностью инактивированных вакцин, изготовленных с использованием масляных адьювантов, обеспечивающих высокий и длительный иммунитет, существует проблема с их остаточной реактогенностью, которую можно решить с помощью подбора более безопасных масляных адьювантов нового поколения (Колотилов А.Н. и др. 2006; Aguilar J. и др., 2007; Румянцев А.М. и др., 2021; Гулюкин А.М. и др., 2023).

Подбор и применение новых адьювантов позволяют включать в состав вакцин большее количество антигенных компонентов и индуцировать более высокий иммунный ответ сразу против нескольких возбудителей, минимизируя при этом остаточные реактогенные последствия.

В связи с этим усовершенствование имеющихся и разработка новых, безопасных и эффективных вакцин для профилактики бактериальных болезней птиц является актуальным и перспективным направлением, что и послужило

основанием для постановки цели и формирования задач данной работы.

Цель исследований: разработать и усовершенствовать средства специфической профилактики бактериальных болезней птиц, протекающих с преимущественным поражением органов респираторного тракта.

Задачи исследований:

- 1) Разработать технологию изготовления инактивированной вакцины против гемофилеза птиц;
- 2) Подобрать оптимальный режим инактивации производственных штаммов *Avibacterium paragallinarum* (*A. paragallinarum*);
- 3) Определить с применением реакции агглютинации протективный уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С, способный при контролльном заражении защитить молодняк кур от клинического проявления гемофилеза птиц;
- 4) Определить оптимальный количественный и качественный состав инактивированной вакцины против гемофилеза птиц;
- 5) Провести доклинические и клинические испытания разработанной инактивированной вакцины против гемофилеза птиц;
- 6) Испытать разные виды адьювантов при изготовлении инактивированной вакцины против пастереллеза птиц для получения иммунологического препарата, обладающего выраженной антигенной активностью по сравнению с имеющимися аналогами;
- 7) Усовершенствовать инактивированную вакцину против респираторного микоплазмоза птиц за счет использования современных масляных адьювантов.

Научная новизна работы. Разработаны два варианта инактивированной вакцины против гемофилеза птиц (отработан режим инактивации *A. paragallinarum*, определено оптимальное содержание антигена в одной иммунизирующей дозе, подобраны эффективные адьюванты). Изучены различные методы применения вакцин, предложены методы контроля качества серии биопрепаратов, сроков и режима их хранения.

Впервые разработан и утвержден технологический регламент для промышленного производства вакцины против гемофилеза птиц инактивированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА», изготавливаемой с использованием в качестве адьюванта Montanide ISA 71 VG.

Научная новизна разработанной вакцины против гемофилеза птиц инактивированной в форме суспензии «ГЕМОВАК» подтверждена полученным патентом РФ RU 2 752 315(13) С1 от 26.07.2021.

Впервые установлена коррелирующая зависимость между уровнем титра

антител в сыворотках крови к *A. paragallinarum*, определяемого с помощью капельной реакции агглютинации (РА) на стекле, и восприимчивостью кур к гемофилезу птиц при их контролльном заражении культурами *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Установлен минимальный протективный уровень антител к *A. paragallinarum* ко всем трем серотипам.

Обоснована целесообразность использования РА для определения антигенной активности в проведении оценки эффективности инактивированных вакцин против гемофилеза птиц.

Показана перспективность применения 2% раствора Carbomer 940 Powder в качестве безопасного и эффективного адьюванта для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза птиц в форме суспензии.

Модифицирована технология изготовления инактивированной эмульсионной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц «АВИВАК-РМ» путем замены ранее используемого масляного адьюванта на Montanide ISA 71 VG, который обеспечивает более выраженную антигенную активность производимого препарата.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследований. На основании проведенных исследований в качестве альтернативы контролльному заражению при оценке эффективности инактивированных вакцин против гемофилеза птиц предложено определять их антигенную активность.

Полученные результаты испытаний были использованы для разработки и составления следующей нормативно-технической документации:

- промышленный регламент на производство вакцины против гемофилеза птиц инактивированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА» № ПР-46262188-017-2019, от 26.02.2019;

- инструкция по ветеринарному применению вакцины против гемофилеза птиц инактивированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА», согласованная зам. Руководителя Россельхознадзора 13.08.2018;

- СТО 4262188-0008-2017 Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная эмульсионная «АВИВАК-КОРИЗА» (Технические условия), согласованное зам. Руководителя Россельхознадзора 13.08.2018;

- на вакцину против гемофилеза птиц инактивированную эмульсионную «АВИВАК-КОРИЗА» получено регистрационное удостоверение лекарственного препарата для ветеринарного применения 29-1-9.18-4226 № ПВР-1-9.18/03447, дата государственной регистрации 13.08.2018;

- промышленный регламент на производство вакцины против гемофилеза

птиц инактивированной в форме суспензии «ГЕМОВАК»;

- инструкция по ветеринарному применению вакцины против гемофилеза птиц инактивированной в форме суспензии "ГЕМОВАК";

- СТО на вакцину против гемофилеза птиц инактивированную в форме суспензии "ГЕМОВАК".

Положительные результаты испытания адьювантов Montanide ISA 71 VG и 2% раствора Carbomer 940 Powder показывают возможность их использования для изготовления инактивированных вакцин против бактериальных инфекций птиц.

Представленные в диссертационной работе результаты исследований были использованы при написании учебно-методических пособий и монографии:

«Элементы и этапы биотехнологического производства: Учебно-методическое пособие» (СПб, 2020); «Производство и контроль качества вакцин для ветеринарного применения согласно правил GMP: Учебно-методическое пособие» (СПб, 2020); «Диагностика, профилактика и лечение бактериальных болезней птиц: Монография (Москва, 2023).

Результаты исследований, представленные в диссертационной работе, используют при чтении лекций и для проведения практических занятий на курсах повышения квалификации ветеринарных врачей, врачей-бактериологов, специалистов птицеводческих предприятий, проводимых на базе ООО «НПП «АВИВАК», на онлайн-курсах повышения квалификации ФГБУ «Центр ветеринарии» на тему: «Болезни птиц: диагностика, профилактика и меры борьбы» (2022–2025 гг.).

Материалы диссертационной работы интегрированы в образовательный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Полученные результаты исследований использованы НПП «АВИВАК» для создания новых и усовершенствования выпускаемых препаратов.

Методология и методы исследования. Методология диссертационной работы опирается на анализ современных научных публикаций, посвященных проблематике инфекционных болезней птиц как в России, так и за рубежом, а также на личный опыт и результаты собственных исследований, полученные в ходе предшествующих экспериментов.

В рамках экспериментальных, доклинических и клинических исследований применяли:

- микробиологические методы – определение культуральных свойств и морфологических признаков микроорганизмов, определение отсутствия

контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой, определение полноты инактивации микроорганизмов;

- нефелометрический метод – определение концентрации микробных клеток;
- физические методы – определение стабильности и вязкости эмульсии;
- биологические методы – изучение безвредности (определение реактогенности) вакцин;
- иммунологические методы – постановка серологических реакций, определение антигенной и иммуногенной активности.

Статистическая оценка полученных результатов проводилась путем арифметической статистики, предложенным Г.Ф. Лакиным, с помощью программы OpenOffice Calc Microsoft, Excel, Microsoft Access и IDEXX. Оценку статистического критерия достоверности различий проводили с использованием теста t-распределения Стьюдента.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- 1) Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная эмульсионная «АВИВАК-КОРИЗА» является эффективным препаратом. Использование вакцины согласно инструкции по применению и с учетом эпизоотологической ситуации в хозяйстве является одним из ключевых инструментов в контроле и профилактике гемофилеза птиц в промышленном птицеводстве;
- 2) Метод определения поствакцинальных антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С с использованием капельной РА на стекле позволяет достоверно оценить протективные свойства инактивированных вакцин против гемофилеза птиц;
- 3) Компонентный состав, иммунобиологические и физико-биологические свойства инактивированных вакцин против гемофилеза птиц, изготовленных с использованием различных адьювантов;
- 4) Полученные результаты доклинических исследований вакцины против гемофилеза птиц инактивированной в форме суспензии «ГЕМОВАК» указывают на возможность использования данного иммунобиологического препарата в схемах профилактических мероприятий птицеводческих хозяйств;
- 5) Вакцина против пастереллеза птиц в форме суспензии, изготовленная с применением высокомолекулярного полимера акриловой кислоты Carbomer 940 Powder, в сравнении с аналогичным препаратом, изготовленным с применением гидроксида алюминия, обладает полной ареактогенностью и обеспечивает выработку антител к *P. multocida* в более высоких значениях;
- 6) Использование масляного адьюванта Montanide ISA 71 VG для

изготовления инактивированной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц в сравнении с масляными адьювантами Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 71 R VG, Montanide ISA 78 VG и «АВИВАК» позволяет получить иммунобиологический препарат с более выраженной антигенной активностью.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность представленных в диссертационном труде данных подтверждается использованием соответствующего поверенного или валидированного оборудования, а также строгим и последовательным соблюдением утвержденных инструкций при проведении экспериментальных работ, доклинических и клинических исследований, что позволяет осуществить выборку анализируемых данных и произвести их адекватную статистическую обработку.

Основные положения диссертационного исследования были предметом докладов и обсуждений на ежегодных отчетных научных и учебно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (СПб, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025); научно-практической конференции «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов (Лосино-Петровский, 2022); научно-практической конференции «Современные научные разработки и передовые технологии для промышленного птицеводства» (Санкт-Петербург, 2023); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины и лабораторной диагностики», посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.В. Рудакова (Санкт-Петербург, 2023); Международной научно-практической конференции «Достижения и проблемы ветеринарной медицины на крайнем севере Российской Федерации», посвященная 115-летию организации Якутской бактериологической лаборатории и проведению научных исследований по ветеринарной медицине в Якутии (г. Якутск, Республика Саха, 2023); V Международной научно-практической конференции «Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развитии сельских территорий» (Луганск, 2024); VI Международном конгрессе «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2024); национальной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биотехнологии», посвященной 25-летию открытия специальности «Ветеринария» (Кинель, 2024); Международной научно-практической конференции «Биотехнология: научные исследования и связь с производством» (Лосино-Петровский, 2024); Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию со дня основания факультета

ветеринарной медицины (Краснодар, 2024); Международной научно-практической конференции, посвящённой памяти профессора Х.Х. Абдуллина «Инновационные решения актуальных вопросов биологической, токсикологической и радиационной безопасности для АПК» (Казань, 2024); Международной научно-практической конференции, посвященной 105-летию кафедры биохимии и физиологии СПбГУВМ «Теория и практика клинической биохимии и лабораторной диагностики» (Санкт-Петербург, 2024).

Личный вклад автора. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. Диссидент лично участвовал в разработке и составлении программ, проведении экспериментальных, доклинических и клинических исследований. Осуществлял постановку и выполнение опытов. Проводил обработку и анализ полученных результатов, непосредственно участвовал в написании научных публикаций, монографии, патента, подготовке докладов и выступлений на семинарах, конференциях и конгрессах. Часть научно-исследовательских испытаний проведено и опубликовано совместно с другими авторами. Соавторы дали согласие на использование совместно полученных результатов в данной работе, что подтверждено документально.

Публикации. Основное содержание диссертации и результаты научных исследований изложены в 31 работе, в том числе 10 в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 1 – статья в журнале, входящем в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science и Scopus), одном патенте и одной монографии.

Соответствие работы паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, пункты: 3, 4, 17, 18, 19, 20.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 300 страницах компьютерного текста, включает в себя введение, обзор литературы, основную часть, заключение, список сокращенных терминов, список используемой литературы и приложения, иллюстрирована 11 рисунками, 58 таблицами. Список использованной литературы включает 344 источника, из них 137 на иностранных языках.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Диссертационная работа выполнена в период с 2020 по 2025 год на кафедре

микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Исследовательская работа проводилась с использованием материально-технической базы научно-производственного предприятия «АВИВАК» в период с 2013 по 2023 год.

При выполнении работы использовались следующие материалы:

- штаммы «B-7770» (серотип А), «441450/СменаВ» (серотип В) и «150215/ТулаС» (серотип С) *A. paragallinarum*, штамм «S₆» *Mycoplasma gallisepticum* (*M. gallisepticum*) и штамм «115» *Pasteurella multocida* (*P. multocida*);
- питательные среды: сердечно-мозговой бульон, бульон «Хоттингера», жидкая среда на коммерческой основе *Mycoplasma Broth Base*;
- препарат для инактивации – формалин;
- масляные адъюванты (МА) Montanide ISA 70 VG (МА «ISA 70»), Montanide ISA 71 VG (МА «ISA 71»), Montanide ISA 71 R VG (МА «ISA 71 R»), Montanide ISA 78 VG (МА «ISA 78»), адъювант Montanide GEL 02 PR (А-т «GEL 02 PR»), минерально-солевой адъювант «3% раствор гидроксида алюминия» (А-т «ГОА»), поликариловый полимерный адъювант «2% раствор Carbomer 940 Powder, Индия» (А-т «Carbomer») и МА «АВИВАК» (белое минеральное масло (95%) + Span (2,5%) + Твин 80 (2,5%));
- диагностикум для выявления антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С с использованием капельной РА на стекле и наборы для выявления антител к *M. gallisepticum* и *P. multocida* методом ИФА – производства «IDEXX»;
- цыплята яичных кроссов «Декалб Уайт», «Хайсекс Браун», «Браун Ник» и «Ломан браун» различных возрастов в количестве 11500 голов.

Культивирование микроорганизмов. Накопление микробной массы *A. paragallinarum* серотипов А, В и С осуществляли на сердечно-мозговом бульоне с добавлением гемина, глюкозы, НАД, сыворотки КРС и цистеина при температуре $37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и избыточном содержании CO₂ (10%) в течение 72 ч. Накопление *P. multocida* осуществляли при температуре $37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, при постоянном перемешивании с аэрацией 8–10% O₂ в течение 24–36 ч с использованием бульона «Хоттингера». *M. gallisepticum* штамма «S₆» культивировали при температуре $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 5 суток на жидкой обогащённой среде, которую готовили с использованием коммерческой основы *Mycoplasma Broth Base* с добавлением лошадиной сыворотки, экстракта дрожжей, глюкозы, оксациллина и индикатора роста 1% раствора фенолового красного.

Инактивация микроорганизмов. Для отработки режима инактивации *A. paragallinarum* использовали формалин.

Инактивацию микробной массы *P. multocida* и *M. gallisepticum* проводили формалином в конечной концентрации по формальдегиду 0,1% при температуре 20–22°C в течение 24 часов.

Изготовление инактивированных вакцин. При изготовлении вакцин в качестве действующего вещества использовали инактивированные формальдегидом антигены микробной массы *A. paragallinarum*, *P. multocida* и *M. gallisepticum*, а в качестве вспомогательного компонента – адьюванты.

Изготовление эмульсионных вакцин осуществляли путем диспергирования бактериальных антигенов в масляных адьювантах в соотношении 30/70 при температуре 10±2,0°C с помощью гомогенизаторов IKA или Silverson.

Изготовление суспензионных вакцин проводили путем перемешивания минерально-солевого или полимерного адьюванта в соотношении 50/50 и 90/10 соответственно, с инактивированными бактериальными антигенами при температуре 22±2°C и скорости вращения 200 об/мин. в течение одного часа.

Полученные образцы вакцин расфасовывали в стерильные флаконы и контролировали согласно заданным показателям.

Контроль качества полуфабрикатов и готовых препаратов. Контроль чистоты накопленной микробной массы *A. paragallinarum*, *P. multocida* и *M. gallisepticum* проводили путем определения культуральных и морфологических свойств микроорганизмов.

Концентрацию микробных клеток определяли согласно ОФС.1.7.2.0008.15 «Определение концентрации микробных клеток», издание XIV, том II. нефелометрическим методом с помощью мутномера *TL2060*.

Полноту инактивации бактериальных антигенов определяли методом трехкратных последовательных посевов на соответствующей питательной среде.

Стабильность эмульсии определяли методом центрифугирования, вязкость – с помощью вискозиметра ВНЖ по ГФ XIV, Том 1, ОФС.1.2.1.0015.15, стр. 595.

Определение стерильности проводили согласно ГОСТ 28085.

Для определения реактогенности (по ГОСТ 31926-2013) и антигенной активности образцы вакцин вводили цыплятам подкожно в область нижней трети шеи, внутримышечно в грудную мышцу или в мышцу между грудной и лучевой костями в объеме двукратной и одной иммунизирующей дозы соответственно.

Степень реактогенности вакцин учитывали путем наблюдения за птицей в течение 10–21 суток после иммунизации и оценки реакции на месте введения вакцины.

Антигенную активность вакцин оценивали по уровню специфических антител в сыворотке крови птиц до и после иммунизации.

Эффективность разработанных препаратов изучали в экспериментальных и производственных условиях путем определения титра специфических антител и сравнения основных эпизоотологических показателей в подопытных и контрольных группах.

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Создание инактивированной вакцины против гемофилеза птиц

2.2.1.1 Обоснование выбора штаммов *A. paragallinarum*

Анализ эпизоотической ситуации птицеводческих предприятий РФ и близлежащих зарубежных стран (Крохин Н.Л. и др., 2018; Потехин А.В. и др., 2020; Воронина М.С., 2021) послужил основанием разработать полиштаммную вакцину против гемофилеза птиц, содержащую антигены *A. paragallinarum* серотипов А, В и С.

2.2.1.2 Подбор оптимального режима инактивации микробной массы *A. paragallinarum* серотипов А, В и С

Для проведения инактивации *A. paragallinarum* использовали формалин, который уже многие десятилетия очень широко и успешно применяют для инактивации инфекционных агентов, применяемых в изготовление вакцин.

Для изучения инактивирующей активности формалина на каждый серотип *A. paragallinarum* в предварительно подготовленные пробы микробной массы (с концентрацией $3,0 \times 10^{10}$ микробных клеток в 1,0 см³) вносили формалин до конечной концентрации формальдегида 0,025; 0,05; 0,075 и 0,1%. Инактивацию проводили при постоянном перемешивании и температуре $20,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, отбирая через 6, 12, 18 и 24 ч. пробы, которые исследовали на полноту инактивации *A. paragallinarum*. Результаты инактивации микробной массы *A. paragallinarum* представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Инактивация *A. paragallinarum* формалином (n=3)

Концентрация формальдегида, %	Время экспозиции, ч.											
	6			12			18			24		
	<i>A. paragallinarum</i> серотип											
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0,025	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,075	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
0,0 (контроль)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» – инактивация *A. paragallinarum* не произошла;
«-» – полная инактивация *A. paragallinarum*.

Полная инактивация *A. paragallinarum* штаммов «B-7770», серотип А; «441450/СменаВ», серотип В и «150215/ТулаC», серотип С наступает при

использовании формалина в конечной концентрации по формальдегиду 0,1% через 18 ч.

Для предотвращения возможной неполной инактивации микроорганизмов нами был выбран следующий режим – инактивация микробной массы *A. paragallinarum* всех трёх серотипов (с концентрацией $3,0 \times 10^{10}$ микробных клеток в 1,0 см³) формалином в конечной концентрации по формальдегиду 0,1% при постоянном перемешивании и температуре $20,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч.

2.2.1.3 Определение протективного уровня антител

к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С

Протективный уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С определяли на 20-суточном молодняке кур яичного направления. Для этого было сформировано четыре группы по 30 птиц. Каждая группа дополнительно была разделена на три подгруппы по 10 птиц.

Цыплят первых трех (подопытных) групп с интервалом 5 суток четырехкратно иммунизировали инактивированным антигеном *A. paragallinarum* определенного серотипа (с содержанием $3,0 \times 10^9$ микробных клеток в 1,0 см³), который вводили подкожно в нижнюю треть шеи, как показано в табл. 2.

Таблица 2 - Гипериммунизация цыплят

Кратность иммунизации	Возраст птицы, сут.	Объем вводимого антигена <i>A. paragallinarum</i> , см ³									
		серотип А			серотип В			серотип С			
		группа птиц №1, подгруппа №		группа птиц №2, подгруппа №		группа птиц №3, подгруппа №					
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	20	0,1	0,15	0,25	0,1	0,15	0,25	0,1	0,15	0,25	
2	25	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	
3	30	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	
4	35	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	0,2	0,35	0,5	

Цыплят четвертой группы не иммунизировали – контрольная группа.

Спустя 14 суток после четвертой иммунизации от птиц всех групп была получена сыворотка крови для определения уровня антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С с использованием капельной РА на стекле.

После взятия крови птиц 1-й группы и 1-й подгруппы 4-й группы заражали культурой *A. paragallinarum* шт. «B-7770», серотип А; 2-й группы и 2-й подгруппы 4-й группы заражали культурой *A. paragallinarum* «441450/СменаВ», серотип В; 3-й группы и 3-й подгруппы 4-й группы заражали культурой *A. paragallinarum* «150215/ТулаС», серотип С. Заражение проводили суточными бульонными культурами *A. paragallinarum* (содержащими $5,0 \times 10^9$ микробных клеток в 1,0 см³), интраокулярно по 0,1 см³ в конъюнктивальный мешок правого и левого глаза. Птиц

групп №1, №2, №3 и каждую подгруппу четвертой группы содержали изолированно, ежедневно в течение 14 суток определяли их клиническое состояние и оценивали наличие характерных для гемофилеза птиц симптомов (отек лицевой части головы, подчелюстного пространства и сережек, припухание подглазничных синусов, ринит, конъюнктивит, кератит). Результаты определения антител к *A. paragallinarum* и контрольного заражения представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Протективный уровень антител к *A. paragallinarum*

Титр антител к <i>A. paragallinarum</i>	Группа птиц №1, подгруппы №1, №2 и №3	Группа птиц №2, подгруппы №1, №2 и №3	Группа птиц №3, подгруппы №1, №2 и №3	Группа птиц №4, подгруппы:		
				№1	№2	№3
Количество цыплят: с титром антител к <i>A. paragallinarum</i> /с проявлением клинических признаков гемофилеза						
0	4/4	3/3	5/4	10/10	10/10	10/9
1:2	7/2	9/2	8/1	0/0	0/0	0/0
1:4	5/0	4/0	4/0	0/0	0/0	0/0
1:8	7/0	5/0	5/0	0/0	0/0	0/0
1:16	5/0	6/0	6/0	0/0	0/0	0/0
1:32	2/0	3/0	2/0	0/0	0/0	0/0

Четырехкратное введение разных доз антигена через 14 суток после последней иммунизации позволило получить у привитых птиц 1-й, 2-й и 3-й группы титр антител к *A. paragallinarum* разного уровня от 0 до 1:32.

Спустя 14 суток после заражения наблюдали, что уровень антител к *A. paragallinarum* всех трех серотипов от 0 до 1:2 не способен защитить птицу от клинического проявления гемофилеза. Титр антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С от 1:4 и выше обеспечивает полную защиту птиц от клинического проявления гемофилеза. Опираясь на полученные результаты для оценки протективных свойств инактивированной вакцины против гемофилеза птиц, нами был определен минимальный показатель антигенной активности вакцины в значении титра антител к *A. paragallinarum* по серотипам А, В и С 1:8 и выше.

2.2.1.4 Определение оптимального количественного и качественного состава инактивированной вакцины против гемофилеза птиц

2.2.1.4.1 Подбор адьюванта и определение оптимальной концентрации антигена в иммунизирующей дозе вакцины

Для проведения данного этапа исследования с применением разных адьювантов было изготовлено двадцать образцов инактивированной вакцины против гемофилеза птиц: образцы с 1-го по 4-й с добавлением МА «ISA 70 VG», с 5-го по 8-й с добавлением МА «ISA 71 VG», с 9-го по 12-й с добавлением МА «ISA 78 VG», с 13-го по 16-й с добавлением А-т «GEL 02 PR» и с 17-го по 20-й с добавлением А-т «ГОА».

При использовании каждого адьюванта было изготовлено по четыре варианта образцов вакцины, которые в одной иммунизирующей дозе объемом 0,5 см³ содержали в первом варианте по 1,5x10⁹ микробных клеток *A. paragallinarum* серотипов А, В и С, во втором варианте по 1,0x10⁹, в третьем и четвертом по 0,75x10⁹ и 0,5x10⁹ микробных клеток соответственно.

2.2.1.4.2 Результаты определения физико-биологических показателей образцов инактивированной вакцины против гемофилеза птиц

Полученные результаты испытаний образцов вакцин по определению внешнего вида, стерильности, относительной вязкости и стабильности эмульсии показали, что образцы вакцин с 1-го по 12-й номер, изготовленные с добавлением адьювантов МА «ISA 70 VG», МА «ISA 71 VG» и МА «ISA 78 VG» представляли собой однородную эмульсию белого цвета, были стерильны и имели показатели вязкости и стабильности в диапазоне 23–36 мм²/с и 2,0–3,0 мм соответственно.

Образцы вакцины с 13-го по 16-й номер, изготовленные с применением А-т «GEL 02 PR» представляли собой стерильную однородную полупрозрачную суспензию с относительной вязкостью 1 мм²/с.

Образцы вакцины с 17-го по 20-й номер, изготовленные с применением А-т «ГОА» представляли собой стерильную светло-серую суспензию с беловатым осадком и с относительной вязкостью 3 мм²/с.

2.2.1.4.3 Результаты изучения реактогенности образцов инактивированной вакцины против гемофилеза птиц

Определение реактогенности образцов вакцины проводили на молодняке кур яичного направления 50-суточного возраста.

Для определения реактогенности вакцин было сформировано 40 групп по 5 птиц в каждой.

Птицы с первой по двадцатую группу были иммунизированы образцами вакцины с первого по двадцатый соответственно. Вакцину вводили в объеме 1,0 см³ подкожно в область нижней трети шеи.

Птицы с 21-й по 40-ю группы также были иммунизированы образцами вакцины с первого по двадцатый соответственно, но в этом случае вакцину вводили внутримышечно в объеме 1,0 см³, птицам с 21-й по 36-ю группу в толщу грудной мышцы, а птицам с 37-й по 40-ю группу между локтевой и лучевой костями.

Учет реактогенности образцов вакцины проводили на протяжении 14 суток после иммунизации, оценивая общее состояние птицы и наличие местной реакции (припухания и болезненности) тканей на месте введения препарата.

При учете реактогенности образцов вакцины было установлено, что птицы всех 40 групп на протяжении 14 суток оставались живыми и клинически

здоровыми. Результаты визуального осмотра и пальпации места введения образцов вакцин представлены в табл. 4.

Таблица 4 – Реактогенность образцов вакцины против гемофилеза птиц

№ образ-ца	Наименование адьюванта	Кол-во в 0,5 см ³ вакцины (х10 ⁹) микробных клеток <i>A. paragallinarum</i> серотипа А/В/С	Наличие местной реакции	
			подкожное введение вакцины	внутримышечное введение вакцины
1	МА «ISA 70 VG»	1,5/1,5/1,5	В 3 случаях из 5	В 5 случаях из 5
2	МА «ISA 70 VG»	1,0/1,0/1,0	Отсутствует	В 1 случае из 5
3	МА «ISA 70 VG»	0,75/0,75/0,75	Отсутствует	Отсутствует
4	МА «ISA 70 VG»	0,5/0,5/0,5	Отсутствует	Отсутствует
5	МА «ISA 71 VG»	1,5/1,5/1,5	Отсутствует	В 2 случаях из 5
6	МА «ISA 71 VG»	1,0/1,0/1,0	Отсутствует	Отсутствует
7	МА «ISA 71 VG»	0,75/0,75/0,75	Отсутствует	Отсутствует
8	МА «ISA 71 VG»	0,5/0,5/0,5	Отсутствует	Отсутствует
9	МА «ISA 78 VG»	1,5/1,5/1,5	В 5 случаях из 5	В 5 случаях из 5
10	МА «ISA 78 VG»	1,0/1,0/1,0	В 5 случаях из 5	В 5 случаях из 5
11	МА «ISA 78 VG»	0,75/0,75/0,75	В 4 случаях из 5	В 5 случаях из 5
12	МА «ISA 78 VG»	0,5/0,5/0,5	В 2 случаях из 5	В 4 случаях из 5
13	А-т «GEL 02 PR»	1,5/1,5/1,5	Отсутствует	Отсутствует
14	А-т «GEL 02 PR»	1,0/1,0/1,0	Отсутствует	Отсутствует
15	А-т «GEL 02 PR»	0,75/0,75/0,75	Отсутствует	Отсутствует
16	А-т «GEL 02 PR»	0,5/0,5/0,5	Отсутствует	Отсутствует
17	А-т «ГОА»	1,5/1,5/1,5	В 1 случае из 5	В 2 случаях из 5
18	А-т «ГОА»	1,0/1,0/1,0	Отсутствует	Отсутствует
19	А-т «ГОА»	0,75/0,75/0,75	Отсутствует	Отсутствует
20	А-т «ГОА»	0,5/0,5/0,5	Отсутствует	Отсутствует

Все испытанные образцы вакцин, вызывающие местную реакцию тканей в области введения вне зависимости от вида адьюванта, более выраженные реактогенные свойства проявили при внутримышечном введении в грудную мышцу или мышцу между лучевой и локтевой костями по сравнению с подкожным введением в область средней трети шеи.

Образцы вакцины, изготовленные с использованием А-т «GEL 02 PR», вне зависимости от концентрации микробных клеток в иммунизирующей дозе и метода применения не обладали реактогенностью.

Образцы, изготовленные с применением МА «ISA 78 VG» с содержанием в 0,5 см³ вакцины от 0,5x10⁹ до 1,5x10⁹ микробных клеток *A. paragallinarum* каждого серотипа, обладали реактогенными свойствами, вызывая местную реакцию в области введения препарата.

При оценке реактогенных свойств образцов вакцин, изготовленных с применением адьювантов МА «ISA 70 VG», МА «ISA 71 VG» и А-т «ГОА» было отмечено, что их реактогенные свойства зависят от концентрации антигенной фракции и могут отсутствовать или проявляться в той или иной степени. Так образцы, изготовленные с использованием МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 VG» показали, что являются ареактогенными и не вызывают припуханий и болезненности тканей на месте введения при подкожном применении если в 0,5 см³ вакцины содержится до 1,0x10⁹ и до 1,5x10⁹ микробных клеток *A. paragallinarum* соответственно. При внутримышечном введении образцов вакцины, изготовленной с использованием МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 VG», местная реакция тканей не проявляется при применении образцов с содержанием в 0,5 см³ вакцины до 0,75x10⁹ и до 1,0x10⁹ микробных клеток *A. paragallinarum* соответственно.

Образец вакцины, изготовленный с использованием А-т «ГОА», не вызывает местной реакции в области введения и является ареактогенным, если при подкожном и внутримышечном применении в 0,5 см³ вакцины содержится до 1,0x10⁹ микробных клеток *A. paragallinarum*.

Так как образцы вакцины №1, №9, №10, №11, №12 и №17 при внутримышечном и подкожном введении проявили реактогенные свойства, то их исключили из дальнейших исследований по определению антигенной активности.

2.2.1.4.4 Результаты определения антигенной активности образцов инактивированной вакцины против гемофилеза птиц

Определение антигенной активности образцов вакцины проводили на молодняке кур яичного направления 50-суточного возраста, для чего было сформировано 29 групп по 10 птиц в каждой.

Птицы с 1-й по 28-ю группу были иммунизированы соответствующим образцом вакцины в объеме 0,5 см³. В зависимости от группы вакцину вводили подкожно в область нижней трети шеи, внутримышечно в толщу грудной мышцы или внутримышечно между локтевой и лучевой костями.

Птиц 29-й группы не вакцинировали – интактный контроль.

С целью определения специфических антител к *A. paragallinarum* от птиц всех групп была получена сыворотка крови за сутки до и через 28 суток после вакцинации. Титр антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С определяли с

использованием капельной РА на стекле. Результаты антигенной активности образцов вакцин спустя 28 суток после иммунизации представлены в табл. 5.

Таблица 5 – Антигенная активность образцов вакцины спустя 28 суток после иммунизации

№ образ-ца	Наимено-вание адъюван-та	Кол-во в 0,5 см ³ вакцины микробных клеток <i>A. paragallinarum</i> серотипа A/B/C	Среднегруппой титр антител к <i>A. paragallinarum</i>					
			подкожное введение вакцины			внутримышечное введение вакцины		
			серотип А	серотип В	серотип С	серотип А	серотип В	серотип С
2	MA «ISA 70 VG»	1,0/1,0/1,0	1:41,6 ±20,24	1:44,8 ±16,52	1:40,0 ±17,28	1:35,2 ±16,52	1:27,2 ±15,18	1:27,2 ±15,18
3	MA «ISA 70 VG»	0,75/0,75/0,75	1:32,0 ±18,47	1:32,0 ±18,47	1:21,6 ±9,28	1:28,0 ±8,64	1:24,0 ±10,67	1:20,0 ±8,64
4	MA «ISA 70 VG»	0,5/0,5/0,5	1:10,8 ±4,64*	1:10,4 ±5,06*	1:7,6 ±3,50*	1:7,6 ±3,50*	1:8,0 ±4,62*	1:6,2 ±2,39*
5	MA «ISA 71 VG»	1,5/1,5/1,5	1:76,8 ±26,98	1:76,8 ±26,98	1:60,8 ±28,02	1:64,0 ±36,95	1:64,0 ±36,95	1:57,6 ±29,40
6	MA «ISA 71 VG»	1,0/1,0/1,0	1:57,6 ±29,40	1:60,8 ±28,02	1:54,4 ±15,47	1:41,6 ±20,24	1:40,0 ±17,28	1:40,0 ±17,28
7	MA «ISA 71 VG»	0,75/0,75/0,75	1:36,8 ±15,18	1:38,4 ±18,78	1:28,8 ±14,7	1:27,2 ±15,18	1:24,8 ±10,67	1:22,4 ±8,26
8	MA «ISA 71 VG»	0,5/0,5/0,5	1:11,6 ±4,79*	1:12,0 ±4,22*	1:9,6 ±5,72*	1:10,4 ±5,06*	1:9,6 ±4,70*	1:8,0 ±4,61*
13	А-т «GEL 02 PR»	1,5/1,5/1,5	1:0,6 ±0,97*	1:0,6 ±0,97*	1:0,4 ±0,84*	1:1,2 ±1,03*	1:1,4 ±1,35*	1:1,0 ±1,05*
14	А-т «GEL 02 PR»	1,0/1,0/1,0	0*	0*	0*	1:0,4 ±0,84*	1:0,2 ±0,63*	1:0,2 ±0,63*
15	А-т «GEL 02 PR»	0,75/0,75/0,75	0*	0*	0*	0*	0*	0*
16	А-т «GEL 02 PR»	0,5/0,5/0,5	0*	0*	0*	0*	0*	0*
18	А-т «ГОА»	1,0/1,0/1,0	1:20,8 ±10,12	1:19,2 ±9,39	1:16,8 ±8,80	1:24,0 ±10,67	1:22,4 ±8,26	1:22,4 ±8,26
19	А-т «ГОА»	0,75/0,75/0,75	1:9,6 ±4,70*	1:10,4 ±5,06*	1:8,0 ±4,61*	1:13,6 ±7,59*	1:12,0 ±4,22*	1:10,4 ±3,86*
20	А-т «ГОА»	0,5/0,5/0,5	1:3,6 ±1,84*	1:4,2 ±2,20*	1:3,0 ±1,41*	1:4,2 ±2,20*	1:5,2 ±2,53*	1:3,4 ±1,90*
Контрольная группа			0*	0*	0*	0*	0*	0*

Примечание: 1:8 – минимальный протективный уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С;

* p<0,05 по отношению к проективному значению.

У птиц подопытных групп до начала эксперимента и у птиц контрольной группы на протяжении всего испытания антител ко всем трем серотипам *A. paragallinarum* обнаружено не было.

Через 28 суток во всех группах птиц, где применяли образцы вакцины, изготовленные с использованием А-т «GEL-02 PR» вне зависимости от метода и концентрации микробной массы в одной иммунизирующей дозе вакцины, антитела к *A. paragallinarum* по всем трём серотипам обнаружены не были или их среднегрупповой титр не превышал $1:1,4 \pm 1,35$. Это указывает на отсутствие протективных свойств у данных образцов вакцины при применении их вышеуказанными методами.

Образцы вакцины, изготовленные с использованием МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 VG», содержащие в одной иммунизирующей дозе $0,75 \times 10^9$ и более микробных клеток *A. paragallinarum* каждого серотипа вне зависимости от способа применения индуцировали образование антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С в протективном титре в интервале – $1:20,0 \pm 8,64$ – $1:76,8 \pm 26,98$ ($p < 0,05$). Необходимо подчеркнуть, что образцы вакцин при подкожном введении в нижнюю треть шеи на 12,4% – 30,8% обладали более высокой антигенной активностью по сравнению с внутримышечным в грудную мышцу. При сравнении результатов антигенной активности образцов вакцины следует, что образцы, изготовленные с использованием МА «ISA 71 VG» обладали на 20,6 % более высокой антигенной активностью по сравнению с образцами, изготовленными с применением МА «ISA 70 VG».

Образцы вакцины против гемофилеза птиц, изготовленные с использованием А-т «ГОА» на 18,8% проявили более выраженную антигенную активность при введении внутримышечно в крыло между лучевой и локтевой костями по сравнению с подкожным введением в область нижней трети шеи.

Спустя 28 суток после иммунизации образец вакцины, изготовленный с использованием А-т «ГОА» с содержанием в одной иммунизирующей дозе по $1,0 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* каждого серотипа, при внутримышечном введении в крыло между лучевой и локтевыми костями способен индуцировать антитела к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С на уровне защитных значений $1:22,4 \pm 8,26$ – $1:24,0 \pm 10,67$ ($p < 0,05$).

Образцы вакцины, изготовленные с использованием МА «ISA 70 VG», МА «ISA 71 VG», содержащие в одной иммунизирующей дозе по $0,5 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* каждого серотипа и образцы, изготовленные с использованием А-т «ГОА», содержащие по 0,5 и $0,75 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* не позволяют при подкожном и внутримышечном применении индуцировать у привитых птиц антитела к *A. paragallinarum* в защитных значениях.

2.2.1.4.5 Выбор образцов вакцины против гемофилеза птиц для проведения доклинических и клинических испытаний

Анализ результатов определения реактогенности и антигенной активности всех испытанных образцов инактивированной вакцины против гемофилеза птиц позволяет сделать заключение, что оптимальным вариантом инактивированной вакцины против гемофилеза птиц является препарат, изготовленный с использованием МА «ISA 71VG» с содержанием в одной иммунизирующей дозе ($0,5 \text{ см}^3$) по $1,0 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. В данном варианте вакцина против гемофилеза птиц при применении подкожно в область нижней трети шеи не обладает реактогенными свойствами в отличие от образца, изготовленного с использованием МА «ISA 78 VG», и в то же время обладает более высокой антигенной активностью по сравнению с образцами, изготовленными с применением А-т «GEL 02 PR», А-т «ГОА» и МА «ISA 70 VG» на 97,4%, 59,4% и 21,9% соответственно.

Вакцине было присвоено название – Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная эмульсионная «АВИВАК-КОРИЗА» и изготовлены ее несколько пилотных (полупромышленных) серий для проведения доклинических и клинических испытаний.

Опираясь на экономические соображения также было принято решение о дальнейшем испытании образца вакцины против гемофилеза птиц, изготовленной с использованием А-т «ГОА», содержащей в одной иммунизирующей дозе ($0,5 \text{ см}^3$) по $1,0 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Данная вакцина при внутримышечном введении в крыло между локтевой и лучевой костями не обладала реактогенными свойствами и индуцировала антитела ко всем трем серотипам *A. paragallinarum* в достаточных протективных значениях ($1:22,4 \pm 8,26 - 1:24,0 \pm 10,67$).

Разработанной вакцине, изготовленной с применением А-т «ГОА», было присвоено название – Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная в форме суспензии "ГЕМОВАК".

2.2.1.5 Доклинические и клинические испытания вакцины «АВИВАК-КОРИЗА»

2.2.1.5.1 Определение стабильности свойств вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» на протяжении 18 мес. хранения

В этом разделе представлены результаты испытания одной из трех серий вакцины «АВИВАК-КОРИЗА», так как при испытании двух других серий вакцины были получены аналогичные результаты.

Оценку качества серии вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» проводили каждые три месяца с момента изготовления на протяжении 18 мес. На протяжении всего периода опыта вакцину во флаконах объемом 500,0 см³ хранили в холодильной камере при температуре 2–8°C. Результаты исследований представлены в табл.6.

Таблица 6 – Стабильность свойств вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» при длительном хранении

Наименование показателя/ характеристика и нормы	Период хранения, мес.						
	0	3	6	9	12	15	18
Внешний вид/ Однородная эмульсия белого или бело-серого цвета. При хранении допускается осаждение плотной белой фракции с просветлением эмульсии в верхней части флакона без отделения водной фазы. Однородность эмульсии должна восстанавливаться при тщательном взбалтывании.							
	Однородная эмульсия белого цвета						
		Осаждение на дне флакона плотной белой фракции, см					
	1,0	2,5	3,5	4,0			
		Эмульсия легко восстанавливается при взбалтывании					
Вязкость (мм²/с), / Не более 200							32
Стабильность/ Высота верхней прозрачной фракции (мм), не более 10				2,0		2,5	3,0
Стерильность/ Должна быть стерильной							Стерильна
Реактогенность (безвредность)/ Должна быть безвредна в двукратной дозе							Безвредна
Антителенная активность (М)/ Среднегрупповое значение титра антител к <i>A. paragallinarum</i> в РА:							
- серотип А, не ниже 1:8	1:54 ±16	1:54 ±16	1:54 ±16	1:51 ±17	1:51 ±17	1:48 ±17	1:48 ±17
- серотип В, не ниже 1:8	1:51 ±17	1:50 ±17	1:48 ±17	1:45 ±17	1:45 ±17	1:45 ±17	1:40 ±17
- серотип С, не ниже 1:8	1:51 ±17	1:48 ±17	1:48 ±17	1:45 ±17	1:45 ±17	1:40 ±17	1:40 ±17

На протяжении 18 мес. исследования отмечено, что показатели внешнего вида, вязкости, стабильности эмульсии, стерильности, реактогенности и антигенной активности вакцины полностью отвечают заданным требованиям, находясь в одинаковых и тех же значениях и характеристиках или изменяются в допустимых пределах. На основании полученных данных срок годности для вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» установлен 18 мес. при соблюдении температурного режима хранения 2–8°C.

2.2.1.5.2 Определение продолжительности иммунного ответа после применения вакцины «АВИВАК-КОРИЗА»

В данном разделе приведены усредненные данные антигенной активности трех полупромышленных (пилотных) серий вакцины «АВИВАК-КОРИЗА». Перед

началом исследований каждая серия вакцины прошла контроль на соответствие по показателям внешнего вида, вязкости, стабильности эмульсии, стерильности и реактогенности.

Антигенную активность вакцин определяли на молодняке кур яйценоской породы 40, 52 и 59-суточного возраста. Для испытания каждой серии вакцины было сформировано по три группы из 10 птиц. Птиц первых групп прививали однократно, птиц вторых групп – двукратно с интервалом 1 мес. Вакцину во всех случаях вводили в область нижней трети шеи в объеме 0,5 см³. Цыплят третьих групп не вакцинировали – контроль.

Для серологических исследований от птиц получали кровь за сутки до, через 1 мес. после первой иммунизации, через 1, 3 мес. после ревакцинации и затем каждые три месяца в течение года. Титр антител к *A. paragallinarum* определяли с использованием капельной РА на стекле.

Результаты определения антигенной активности вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» представлены в табл. 7.

Таблица 7 – Антигенная активность вакцины «АВИВАК-КОРИЗА»

Группа птиц	Серотип <i>A. paragallinarum</i>	Среднегрупповой титр антител к <i>A. paragallinarum</i> в РА						
		после однократной вакцинации, мес.						
		0	1	2	4	7	10	13
		после двукратной вакцинации (ревакцинации), мес.						
№1 Однократная иммунизация	A	0	1:48,0 ±33,74	1:49,6 ±32,40	1:32,0 ±18,47	1:24,8 ±16,19	1:9,6 ±4,70*	1:4,2 ±2,20*
		0	1:43,2 ±22,69	1:44,8 ±16,52	1:33,6 ±17,60	1:21,6 ±9,28	1:7,6 ±3,5*	1:3,6 ±1,84*
		0	1:41,6 ±20,24	1:41,6 ±20,24	1:28,8 ±14,70	1:20,0 ±8,64	1:6,4 ±2,07*	1:3,2 ±1,03*
	B	0	1:46,4 ±19,16	1:92,8 ±38,31	1:86,4 ±37,10	1:67,2 ±35,22	1:27,2 ±15,18	1:17,6 ±8,26
		0	1:43,2 ±18,55	1:96,0 ±42,67	1:86,4 ±37,10	1:76,8 ±26,98	1:40,0 ±17,28	1:19,2 ±9,39
		0	1:40,0 ±17,28	1:76,8 ±26,98	1:67,2 ±35,22	1:28,8 ±14,7	1:20,0 ±8,64	1:16,0 ±6,53
№3 Контрольная	A/B/C	0/0/0	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*

Примечание: 1:8 – минимальный протективный уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С;

* p<0,05 по отношению к протективному значению.

Антитела к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С до вакцинации у птиц всех групп отсутствовали, а через 1 мес. после первой вакцинации среднегрупповой титр антител у птиц первых и вторых групп к *A. paragallinarum* к каждому серотипу

при использовании РА составил $1:40,0 \pm 17,28$ – $1:48,0 \pm 33,74$. Спустя 2 мес. после вакцинации у птиц первых групп титр антител ко всем трем серотипам *A. paragallinarum* оставался практически на том же уровне – $1:41,6 \pm 20,24$ – $1:49,6 \pm 32,40$ ($p > 0,05$), а через 4 и 7 мес. заметно снизился до $1:28,8 \pm 14,70$ – $1:33,6 \pm 17,60$ и $1:20,0 \pm 8,64$ – $1:24,8 \pm 16,19$ соответственно ($p < 0,05$). По истечении 10 мес. у птиц первых групп титр антител *A. paragallinarum* серотипу А понизился до $1:9,6 \pm 4,70$, а к серотипам В и С упал ниже протективного уровня $1:7,6 \pm 3,5$ и $1:6,4 \pm 2,07$ соответственно ($p < 0,05$).

У птиц вторых групп через 1 мес. после второй иммунизации (ревакцинации) уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С достиг значения $1:92,8 \pm 38,31$; $1:96,0 \pm 42,67$ и $1:76,8 \pm 26,98$ соответственно ($p < 0,05$) и находился примерно на том же уровне ещё 2 мес. Спустя 6 мес. после второй вакцинации титр антител к *A. paragallinarum* серотипам А, В и С начал плавно снижаться и через 12 мес. после ревакцинации составил $1:17,6 \pm 8,26$; $1:19,2 \pm 9,39$ и $1:16,0 \pm 6,53$ соответственно ($p < 0,05$).

В контрольных группах птиц антитела к *A. paragallinarum* серотипам А, В и С до начала и на всем протяжении проведения исследования отсутствовали.

Проведенное испытание показало, что вакцина «АВИВАК-КОРИЗА» является антигенно активной, обеспечивая достаточно напряженный иммунный ответ ко всем серотипам *A. paragallinarum* продолжительностью не менее 7 мес. при однократном и не менее 12 мес. при двукратном применении.

2.2.1.5.3 Результаты клинических испытаний вакцины «АВИВАК-КОРИЗА»

Применение вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» на молодняке кур кросса «Браун Ник» в 55- суточном возрасте на п/ф «Русь-Племптица» и на молодняке кур кросса «Хайсекс Браун» в 59-суточном возрасте на п/ф «Белокалитвинская» согласно инструкции по применению, спустя 28 суток после иммунизации обеспечивало формирование титра антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С в положительных значениях (в РА $1:40,97$ – $1:47,04$).

После ревакцинации молодняка кур кросса «Браун Ник» в 83-суточном возрасте, через 31 сутки после повторной иммунизации титр антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С увеличился до $1:86,4$ – $1:89,6$.

У молодняка кур кросса «Хайсекс Браун» после ревакцинации в 87-суточном возрасте, через 21 и 35 суток после второй иммунизации титр антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С составил $1:68,16$ – $1:78,08$ и $1:78,72$ – $1:85,12$ соответственно.

Симптомы проявления гемофилеза и поствакцинальные осложнения при первой и второй иммунизации у молодняка кур кроссов «Браун Ник» и «Хайсекс Браун» отсутствовали. Сохранность поголовья в обоих случаях за тур составила не менее 99,1 %, а суточный отход не превышал 0,01 %.

2.2.1.6 Доклинические испытания вакцины "ГЕМОВАК"

2.2.1.6.1 Определение стабильности свойств вакцины «ГЕМОВАК» на протяжении 12 мес.

Сразу после изготовления и на протяжении 12 мес. хранения при температуре 2,0–8,0°C вакцину «ГЕМОВАК» с периодичностью 3 мес. исследовали по показателям внешнего вида, стерильности, реактогенности и антигенной активности. Результаты исследований представлены в табл. 8.

Таблица 8 – Стабильность свойств вакцины «ГЕМОВАК» при длительном хранении

Наименование показателя/ характеристика и нормы	Период хранения, мес.				
	0	3	6	9	12
Внешний вид/ Светло-серая суспензия с беловатым осадком, образующимся на дне флакона при хранении и легко разбивающимся при взбалтывании в гомогенную взвесь	Светло-серая суспензия с беловатым осадком на дне флакона, который при взбалтывании легко разбивается в гомогенную взвесь				
Стерильность/ Должна быть стерильной	Стерильна				
Реактогенность (безвредность)/ Должна быть безвредна в двукратной дозе	Безвредна				
Антигенная активность (М)/ Среднегрупповое значение титра антител к <i>A. paragallinarum</i> в РА: - серотип А, не ниже 1:8 - серотип В, не ниже 1:8 - серотип С, не ниже 1:8	1:24 ±11	1:24 ±11	1:22 ±8	1:20 ±9	1:20 ±9
	1:22 ±8	1:22 ±8	1:22 ±8	1:20 ±9	1:20 ±9
	1:22 ±8	1:22 ±8	1:20 ±9	1:20 ±9	1:20 ±9

После изготовления вакцина «ГЕМОВАК» представляла собой светло-серую суспензию с беловатым осадком, образующимся на дне флакона при хранении и легко разбивающимся при взбалтывании в гомогенную взвесь, была стерильна, безвредна, обладала достаточной антигенной активностью и полностью отвечала требуемым характеристикам.

В дальнейшем в процессе хранения вакцины «ГЕМОВАК» в течение 12 мес. при температуре 2–8°C показатели вязкости, стерильности и безвредности оставались без изменений.

Результаты антигенной активности вакцины «ГЕМОВАК» показывают, что

на протяжении 12 мес. хранения при температуре 2–8°C вакцина соответствовала параметрам качества по антигенной активности.

2.2.1.6.2 Определение продолжительности иммунного ответа после применения вакцины «ГЕМОВАК»

Для проведения данного испытания использовали одну из пилотных серий вакцины «ГЕМОВАК», которая была безвредной (ареактогенной), стерильной и представляла светло-серую суспензию.

Для испытания вакцины на антигенную активность использовали цыплят кросса «Хайсекс Браун» 47-суточного возраста, для чего было сформировано три группы по 10 птиц. Птиц первой группы прививали однократно, птиц второй группы – двукратно с интервалом 30 суток. Вакцину вводили в мышцу крыла между лучевой и локтевой костями в объеме 0,5 см³. Птиц третьей группы не вакцинировали.

Для серологических исследований от птиц брали кровь в следующие сроки: за сутки до и через 30 суток после первой иммунизации; через 1, 3 мес. после ревакцинации и затем каждые три месяца в течение 9 мес. Титр антител к *A. paragallinarum* определяли с использованием капельной РА на стекле.

Результаты определения антигенной активности вакцины «ГЕМОВАК» представлены в табл. 9.

Таблица 9 – Антигенная активность вакцины «ГЕМОВАК»

Группа птиц	Серотип <i>A. paraga-llinarum</i>	Среднегрупповой титр антител к <i>A. paragallinarum</i> в РА					
		после однократной вакцинации, мес					
		0	1	2	4	7	10
		после двукратной вакцинации (ревакцинации), мес.					
		0	0	1	3	6	9
№1 Однократная иммунизация	<i>A</i>	0	1:21,6 ±9,28	1:20,0 ±8,64	1:11,6 ±4,79*	1:7,6 ±3,50*	не опре- деляли
	<i>B</i>	0	1:18,4 ±7,59	1:18,4 ±7,59	1:10,8 ±4,64*	1:6,4 ±2,07*	не опре- деляли
	<i>C</i>	0	1:18,4 ±7,59	1:18,4 ±7,59	1:10,4 ±5,06*	1:6,8 ±1,93*	не опре- деляли
№2 Двукратная иммунизация	<i>A</i>	0	1:21,6 ±9,28	1:57,6 ±29,41	1:43,2 ±18,55	1:20,8 ±10,12	1:10,4 ±5,06*
	<i>B</i>	0	1:20,0 ±8,64	1:41,6 ±20,24	1:32,0 ±18,36	1:18,4 ±7,59	1:6,8 ±1,93*
	<i>C</i>	0	1:18,5 ±7,59	1:40,0 ±17,28	1:28,8 ±14,7	1:17,6 ±8,26	1:5,2 ±2,53*
№3 Контрольная	<i>A/B/C</i>	0/0/0	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*	0/0/0*

Примечание: 1:8 – минимальный протективный уровень антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С;

* p<0,05 по отношению к протективному значению.

Антитела к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С до вакцинации у птиц всех групп отсутствовали, а через 1 мес. после первой вакцинации среднегрупповой титр антител у птиц первой и второй группы к *A. paragallinarum* к каждому серотипу был в диапазоне $18,4\pm7,59$ – $21,6\pm9,28$. Спустя 2 мес. после вакцинации у птиц первой группы титр антител ко всем трем серотипам *A. paragallinarum* оставался практически на том же уровне $18,4\pm7,59$ – $1:20,0\pm8,64$ ($p>0,05$), а через 4 и 7 мес. заметно снизился до $1:10,4\pm5,06$ – $1:11,6\pm4,79$ и $1:6,4\pm2,07$ – $1:7,6\pm3,50$ соответственно ($p<0,05$).

У птиц 2-й группы после второй иммунизации уровень антител к *A. paragallinarum* серотипам А, В и С через 1 мес. в среднем составил $1:57,6\pm29,41$; $1:41,6\pm20,24$ и $1:40,0\pm17,28$ соответственно. Спустя 3 мес. после второй вакцинации титр антител к *A. paragallinarum* серотипам А, В и С начал снижаться и составил $1:28,8\pm14,7$ – $1:43,2\pm18,55$ ($p<0,05$). Через 6 и 9 мес. титр антител к *A. paragallinarum* продолжил снижаться, находясь в значениях $1:17,6\pm8,26$ – $1:20,8\pm10,12$ и $1:5,2\pm2,53$ – $10,4\pm5,06$ соответственно ($p<0,05$).

Проведенное испытание показало, что вакцина «ГЕМОВАК» является антигенно активной, обеспечивая у двукратно привитых птиц достаточно напряженный иммунитет ко всем серотипам *A. paragallinarum* продолжительностью не менее 6 мес.

2.2.2 Усовершенствование инактивированной вакцины против пастереллеза птиц

Вакцина против пастереллеза птиц инактивированная сорбированная «АВИВАК-ПАСТОВАК» изготавливается на основе инактивированного формальдегидом штамма *P. multocida* № 115 с добавлением в качестве адьюванта гидроксида алюминия. С 2007 года вакцина широко и успешно применяется на территории РФ и странах ближнего зарубежья для специфической профилактики пастереллеза птиц.

Однако следует отметить, что вакцины, изготовленные с использованием гидроксида алюминия без проведения ревакцинации, не позволяют обеспечить напряженный продолжительный иммунитет у привитой птицы.

В связи с этим нами был поставлен вопрос об испытании других видов адьювантов, способных обеспечить более выраженную антигенную активность вакцины против пастереллеза птиц.

2.2.2.1 Приготовление образцов инактивированных вакцин против пастереллеза птиц с использованием адьювантов разных видов

На основе инактивированного антигена *P. multocida* с применением разных видов адьювантов было изготовлено пять образцов вакцины: 1-й образец с использованием А-т «ГОА», 2-й и 3-й с использованием А-т «Carbomer», 4-й и 5-й с использованием МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 R VG» соответственно.

Одна иммунизирующая доза для всех пяти образцов вакцины составляла $3,0 \times 10^9$ микробных клеток *P. multocida*, которая содержалась в 1,0 см³ у 1-го и 2-го образца, а у 3-го, 4-го и 5-го образца вакцины в 0,5 см³.

2.2.2.2 Этапы исследования образцов инактивированных вакцин

Полученные образцы вакцины исследовали на ряд физико-биологических показателей согласно общепринятым методам.

Определение реактогенности и антигенной активности вакцин проводили на молодняке кур яичного направления 62-суточного возраста.

Реактогенность вакцин определяли путем введения каждого образца вакцины пяти цыплятам в двукратной иммунизирующей дозе подкожно в область нижней трети шеи. Дополнительно образцами №1, №2 и №3 было иммунизировано по пять цыплят в двойной дозе путем введения вакцины в толщу мышцы между лучевой и локтевой костями.

Учет реактогенности проводили через 10 дней после иммунизации, для чего птиц подвергали эвтаназии, проводили вскрытие с целью учета реакции тканей на месте введения вакцины. Степень реактогенности вакцин оценивали по наличию изменений и характеру реакции тканей на месте введения препарата.

Для определения антигенной активности было сформировано 9 изолированных групп цыплят по 10 голов в каждой. Птиц с 1-й по 5-ю группу иммунизировали образцами вакцин с 1-го по 5-й номер соответственно, вакцину вводили в однократной дозе подкожно в область нижней трети шеи. Птиц 6-й, 7-й 8-й группы иммунизировали образцами вакцин №1, №2 и №3 соответственно, методом внутримышечной инъекции в крыло между лучевой и локтевой костями. Птиц девятой группы не вакцинировали.

С целью определения специфических антител к *P. multocida* от птиц всех групп была получена сыворотка крови за сутки до и через 28 суток после вакцинации. Титр антител к *P. multocida* определялся методом ИФА, с использованием тест-систем производства «IDEXX». За наименьший защитный титр антител к *P. multocida* считали значение – 792 (двойной минимальный положительный показатель, указанный в наставлении по применению набора).

2.2.2.3 Результаты исследований образцов инактивированных вакцин против пастереллеза птиц, изготовленных с использованием разных адьювантов

При изучении полученных данных физико-биологических характеристик установлено, что образец вакцины, изготовленный с применением А-т «ГОА» представлял собой светло-серую суспензию с беловатым осадком, а образец, изготовленный с применением А-т «Carbomer» – полупрозрачную белесую суспензию. При этом оба образца вакцины были стерильны, с показателем вязкости 3 мм²/с. Образцы вакцины, изготовленные с применением адьювантов МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 R VG», были стерильны и имели вид однородной эмульсии белого цвета с показателями вязкости и стабильности – 32–33 мм²/с и 3,0 мм соответственно.

2.2.2.3.1 Результаты реактогенности вакцин против пастереллеза птиц

При оценке реактогенных свойств установлено, что в зависимости от используемого адьюванта и метода введения, образцы вакцин (на месте введения) вызвали разную реакцию. Так, все образцы вакцин, изготовленные с использованием А-т «Carbomer» независимо от объема иммунизирующей дозы и метода применения в месте введения не вызывали признаков воспалительной реакции, то есть были ареактогенны.

Вакцина против пастереллеза птиц, изготовленная с использованием А-т «ГОА», при введении в двукратной дозе подкожно, в нижнюю треть шеи, спустя 10 суток не вызывала признаков воспалительной реакции, а при введении внутримышечно, между лучевой и локтевой костями, в одном случае из пяти обладала остаточными реактогенными свойствами, которые проявлялись наличием в месте прививки под кожей в толще мышцы точечных кровоизлияний и локальным формированием фибрина в виде пластинки.

Вакцины, изготовленные с применением МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 R VG», при введении в двукратной дозе подкожно в нижнюю треть шеи были в равной степени ареактогенны, не вызывая в месте введения признаков воспалительной реакции или обладали остаточными реактогенными свойствами, которые выражались наличием под кожей в области нижней трети шеи и зоба полосчатых кровоизлияний и локальных образований соединительной ткани.

2.2.2.3.2 Результаты антигенной активности вакцин против пастереллеза птиц

При испытании образцов вакцин были получены различные результаты антигенной активности, которые представлены в табл. 10.

Таблица 10 – Антигенная активность вакцин против пастереллеза птиц

№ группы	Вакцина			Среднегеометрический групповой (GMean) титр антител к <i>P. multocida</i> в ИФА	
	№ образца	наименование адьюванта	метод и объем (см ³) введения	за сутки до вакцинации	через 28 суток после вакцинации
1	1	А-т «ГОА»	п/к, 1,0	175,0±49,0	1038,0±239,0
2	2	А-т «Carbomer»	п/к, 1,0	278,0±86,0	3936,0±1441,4
3	3	А-т «Carbomer»	п/к, 0,5	237,0±102,0	1662,0±648,2
4	4	МА «ISA 70 VG»	п/к, 0,5	290,0±104,0	6074,0±2247,0
5	5	МА «ISA 71 R VG»	п/к, 0,5	244,0±66,0	5704,0±2110,0
6	1	А-т «ГОА»	в/м, 1,0	224,0±62	1540,0±462,0
7	2	А-т «Carbomer»	в/м, 1,0	155,0±123,0	4466,0±1340,0
8	3	А-т «Carbomer»	в/м, 0,5	316,0±77,0	2920,0±1110,0
9		Вакцинация не проводилась		307,0±83,0	283,0±107,5

Примечание: 792 – минимальный протективный уровень антител к *P. multocida*

п/к – подкожно в нижнюю треть шеи

в/м – внутримышечно в крыло между лучевой и локтевой костями

Цыплята подопытных и контрольных групп до иммунизации не содержали в крови специфических антител к *P. multocida* в положительных значениях.

Спустя 28 суток после иммунизации во всех группах птиц, в которых применялись образцы вакцин, титр антител к *P. multocida* достиг положительных диагностических значений в интервале 1038,0±239,0–6074,0±2247,0 ($p<0,05$).

При сравнительном анализе вакцин, изготовленных с использованием адьювантов разных групп, отмечено, что после применения вакцин, изготовленных с использованием масляных адьювантов МА «ISA 70 VG» и МА «ISA 71 VG», средний титр антител к *P. multocida* у птиц подопытных групп находился практически на одном уровне, составляя 5704,0±2110,0 и 6074,0±2247,0 соответственно.

Образцы вакцины, изготовленные с применением А-т «ГОА», индуцировали титр антител к *P. multocida* в диапазоне 1038,0±239,0–1540,0±462,0, что в 2,9–3,8 раза ниже по сравнению с образцами вакцин, изготовленных с применением А-т «Carbomer», после применения которых титр антител был отмечен в диапазоне 3936,0±1441,4–4466±1340,0 ($p<0,05$).

Вакцина, изготовленная с использованием А-т «Carbomer» с содержанием $3,0 \times 10^9$ микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом 1,0 см³ (образец №2), обеспечивала выработку антител к *P. multocida* после

иммунизации внутримышечно в крыло между лучевой и локтевой костями в титре $4466,0 \pm 1340,0$, а после применения подкожно в нижнюю треть шеи - в титре $3936,0 \pm 1441,4$. При испытании образца вакцины №3, изготовленного на аналогичном адьюванте, но содержащего $3,0 \times 10^9$ микробных клеток *P. multocida* в одной иммунизирующей дозе объемом $0,5 \text{ см}^3$ после применения внутримышечно в крыло между лучевой и локтевой костями и подкожно в нижнюю треть шеи, титр антител к *P. multocida* составил $2920,0 \pm 1110,0$ и $1662,0 \pm 648,2$ соответственно. Полученные данные дают основание предположить, что антиген *P. multocida* в концентрации $3,0 \times 10^9$ микробных клеток в одной иммунизирующей дозе вакцины, проявляет более высокую антигенную активность при содержании в прививном объеме $1,0 \text{ см}^3$, а не $0,5 \text{ см}^3$ ($p < 0,05$).

При анализе результатов испытания вакцин против пастереллеза птиц образца №1, изготовленного с использованием А-т «ГОА», образцов №2 и №3, изготовленных с использованием А-т «Carbomer», после их применения внутримышечно между лучевой и локтевой костями было установлено, что средний титр к *P. multocida* в группах привитых цыплят составил $1540,0 \pm 462,0$; $4466,0 \pm 1340,0$ и $2920,0 \pm 1110,0$ соответственно, что на 11-43 % выше, чем при применении аналогичных образцов вакцин в тех же дозах подкожно в нижнюю треть шеи, где средний титр к *P. multocida* составил $1038,0 \pm 239,0$; $3936,0 \pm 1441,4$ и $1662,0 \pm 648,2$ соответственно.

Анализ полученных результатов исследований образцов вакцин против пастереллеза птиц, изготовленных на разных адьювантах по совокупному учёту данных реактогенности и антигенной активности позволяет сделать заключение, что предпочтительным препаратом является вакцина, изготовленная с использованием А-т «Carbomer» с содержанием $3,0 \times 10^9$ микробных клеток *P. multocida* в $1,0 \text{ см}^3$ (образец №2) при применении внутримышечно между лучевой и локтевой костями.

2.2.3 Усовершенствование инактивированной эмульсионной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц

Длительное время в птицехозяйствах с положительным эффектом применялась разработанная в НПП «АВИВАК» инактивированная эмульсионная вакцина «АВИВАК-РМ» на основе вакцинного штамма «S₆» *M. gallisepticum* с использованием МА «ISA 70 VG». В то же время за последние годы на рынке масляных адьювантов появились новые продукты, которые по заверению изготовителей способны стимулировать формирование более высокого иммунного ответа. В связи с этим нами был поставлен вопрос об испытании других масляных

адъювантов, способных обеспечить более выраженную антигенную активность вакцины против респираторного микоплазмоза птиц.

2.2.3.1. Приготовление образцов инактивированных вакцин против респираторного микоплазмоза птиц

Для изготовления образцов инактивированной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц использовали разные масляные адъюванты МА «ISA 70 VG», МА «ISA 71 VG», МА «ISA 71 R VG», МА «ISA 78 VG» и МА «АВИВАК», которые соединяли с микробной массой в соотношении 30/70 так, чтобы каждая доза вакцины ($0,5 \text{ см}^3$) содержала $1,0 \times 10^9$ микробных клеток *M. gallisepticum*.

2.2.3.2. Этапы исследования образцов инактивированной вакцин против респираторного микоплазмоза

Все образцы вакцин были исследованы на соответствие заданным характеристикам по внешнему виду, стерильности, стабильности и вязкости эмульсии согласно общепринятым методам.

Определение реактогенности и антигенной активности образцов вакцины проводили на молодняке кур яичного направления 25-суточного возраста полученных из хозяйства благополучного по инфекционным болезням.

Для определения реактогенности каждым образцом вакцины в объеме $1,0 \text{ см}^3$ подкожно в область средней трети шеи иммунизировали по 5 голов цыплят.

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.

Для определения антигенной активности было сформировано 6 изолированных групп цыплят по 10 голов в каждой. Птиц с 1-й по 5-ю группу вакцинировали соответствующим образцом вакцины. Шестая группа птиц не вакцинировалась – контроль.

С целью определения специфических антител к *M. gallisepticum* от птиц всех групп была получена сыворотка крови за сутки до и через 28 суток после вакцинации. Титр антител к *M. gallisepticum* определяли методом ИФА, с использованием тест-систем производства «IDEXX». За наименьший защитный титр антител к *M. gallisepticum* считали значение – 2028 (двойной минимальный положительный показатель, указанный в наставлении по применению набора).

2.2.3.3. Результаты исследований образцов инактивированных вакцин против респираторного микоплазмоза птиц

Изготовленные образцы вакцин были стерильны, представляли собой

однородную эмульсию белого цвета с показателями вязкости и стабильности в диапазоне 26–40 мм²/с и 1,0–3,0 мм соответственно.

При учете результатов реактогенности вакцины было установлено, что на месте введения всех пяти образцов вакцин признаков воспалительной реакции обнаружено не было, то есть образцы вакцин были ареактогенны.

Результаты определения антигенной активности образцов вакцины против респираторного микоплазмоза птиц представлены в табл. 11.

Таблица 11 – Антигенная активность образцов вакцины против респираторного микоплазмоза птиц

Номер группы птиц	Вакцина		Среднегеометрический групповой (GMean) титр антител к <i>M. gallisepticum</i> в ИФА	
	№ образца	наименование адьюванта	за сутки до вакцинации	через 28 сут после вакцинации
1	1	МА «ISA 70 VG»	56,0±20,0	4607,0±1428,0
2	2	МА «ISA 71 VG»	43,0±14,0	6701,0±2680,0
3	3	МА «ISA 71 R VG»	51,0±13,0	2680,0±599,0
4	4	МА «ISA 78 VG»	32,0±11,0	5818,0±2210,0
5	5	МА «АВИВАК»	42,0±14,0	4701,0±1296,0
6	Вакцинация не проводилась		44,0±16,0	275,0±88,0

Примечание: 2028 – минимальный протективный уровень антител к *M. gallisepticum*

Птицы подопытных групп до начала эксперимента и птицы контрольной группы на протяжении всего периода опыта не содержали в крови специфических антител к *M. gallisepticum* в положительных значениях.

Спустя 28 суток после иммунизации в группах, где применяли образцы вакцин, абсолютно у всех птиц отмечали прирост титра антител к *M. gallisepticum* до положительных диагностических значений ($p<0,05$). Так, GMean в группах птиц, привитых образцами вакцин, находился в интервале 2680,0±599,0–6701±2680,0.

При испытании образца вакцины № 1, изготовленного с применением МА «ISA 70 VG», среднегрупповой титр антител к *M. gallisepticum* составил 4607,0±1428,0.

Самый высокий среднегрупповой титр антител со значением 6701,0±2680,0 к *M. gallisepticum* был отмечен в группе №2 после применения образца вакцины, изготовленного с использованием МА «ISA 71 VG».

При испытании образца вакцины № 3, изготовленного с использованием МА «ISA 71 R VG», среднегрупповой титр антител к *M. gallisepticum* составил

$2680,0 \pm 599,0$, что ниже в 1,7–2,5 раза по сравнению со значениями титра антител полученными после применения других образцов вакцин.

В группе №4 (вакцина, изготовленная с применением МА «ISA 78 VG») средний титр антител по группе составил $5818,0 \pm 2210,0$.

При испытании образца вакцины № 5, изготовленного с применением адьюванта «АВИВАК», среднегрупповой титр антител к *M. gallisepticum* составил $4701,0 \pm 1296,0$.

Анализ результатов испытания различных вариантов инактивированной эмульсионной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц, изготовленной с использованием масляных адьювантов МА «ISA 70 VG», МА «ISA 71 VG», МА «ISA 71 R VG», МА «ISA 78 VG» и МА «АВИВАК» показал, что все образцы вакцины ареактогенны (безвредны) и обеспечивают формирование у привитых птиц титр антител к *M. gallisepticum* необходимого протективного уровня. Однако инактивированная эмульсионная вакцина против респираторного микоплазмоза птиц, изготовленная с применением МА «ISA 71 VG» на 13,2% – 60,0% обладает более выраженным антигенными свойствами по сравнению с образцами вакцины, изготовленной на других адьювантах ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опираясь на результаты, полученные при проведении исследований, нами сделаны следующие выводы:

1. Доклинические и клинические испытания разработанной инактивированной эмульсионной вакцины против гемофилеза птиц «АВИВАК-КОРИЗА», изготовленной с использованием МА «ISA 71 VG» с содержанием в одной иммунизирующей дозе ($0,5 \text{ см}^3$) по $1,0 \times 10^9$ микробных клеток *A. paragallinarum* серотипов А, В и С показали, что вакцина является ареактогенной и обладает выраженной антигенной активностью. Вакцина «АВИВАК-КОРИЗА» обеспечивает у иммунизированных птиц через 28 суток после второй вакцинации выработку титра антител в протективных значениях $1:76,8 \pm 26,98$ – $1:96,0 \pm 42,67$ по всем трём серотипам *A. paragallinarum*. Спустя 12 мес. после второй иммунизации титр антител к *A. paragallinarum* сохранился на протективном уровне и находился в интервале $1:16,0 \pm 6,53$ – $1:19,2 \pm 9,39$.

2. Разработанная и запатентованная инактивированная сорбированная вакцина против гемофилеза птиц «ГЕМОВАК», при изготовлении которой в качестве адьюванта был использован 3% раствор ГОА по сравнению с вакциной, изготовленной с применением Montanide ISA 71 VG, индуцирует менее

выраженный иммунный ответ. Тем не менее вакцина «ГЕМОВАК» обеспечивает выработку титра антител к *A. paragallinarum* серотипам А, В и С в необходимых протективных значениях ($1:40,0 \pm 17,28 - 1:57,6 \pm 29,41$) через 28 суток после двукратной иммунизации птиц. Спустя 6 мес. после второй иммунизации титр антител к *A. paragallinarum* сохраняется в протективных значениях, находясь в интервале $1:17,6 \pm 8,26 - 1:20,8 \pm 10,12$.

3. Установлена коррелирующая зависимость между уровнем сывороточных антител, определяемых с использованием капельной РА на стекле, и восприимчивостью кур к гемофилезу птиц при контролльном заражении культурами *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Ко всем трем серотипам *A. paragallinarum* протективным уровнем антител является значение – 1:8 и выше.

4. Разработан метод определения эффективности инактивированных вакцин против гемофилеза птиц. Метод основан на использовании капельной РА на стекле с целью оценки антигенной активности вакцины по уровню постvakцинальных антител к *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Предложенный метод является более гуманной, простой и дешевой альтернативой контролльному заражению птиц. Определение антигенной активности включено в нормативную документацию в качестве основного критерия оценки эффективности вакцин «АВИВАК-КОРИЗА» и «ГЕМОВАК».

5. Полнота инактивации культуры *A. paragallinarum* серотипов А, В и С достигается воздействием формальдегида в 0,1% концентрации при постоянном перемешивании и температуре $20,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч.

6. Применение инактивированной эмульсионной вакцины против гемофилеза птиц методом подкожной инъекции в нижнюю треть шеи по сравнению с внутримышечной иммунизацией в грудную мышцу является более безопасным методом и обеспечивает на 12,4% – 30,8% более высокую выработку антител к *A. paragallinarum*.

7. Использование Carbomer 940 Powder в качестве адьюванта позволяет получить безвредную и эффективную инактивированную вакцину против пастереллеза птиц, антигенная активность которой в 2,9–3,8 раза выше антигенной активности аналогичной вакцины, изготовленной с использованием 3% гидроксида алюминия.

8. Инактивированная эмульсионная вакцина против респираторного микоплазмоза птиц, изготовленная с использованием Montanide ISA 71 VG, является безвредной и на 13,2% – 60,0% обладает более высокой антигенной активностью, чем образцы вакцины, изготовленные с применением адьювантов

Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 71 R VG, Montanide ISA 78 VG и «АВИВАК».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании проведенных исследований разработаны иммунобиологические препараты: инактивированная эмульсионная вакцина против гемофилеза птиц «АВИВАК-КОРИЗА» и инактивированная сорбированная вакцина против гемофилеза птиц «ГЕМОВАК». С целью определения эффективности разработанных вакцин предложен метод оценки их антигенной активности по уровню поствакцинальных антител.

В комплексе с другими противоэпизоотическими и ветеринарно-санитарными мероприятиями разработанные инактивированные вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» и «ГЕМОВАК» могут быть использованы для эффективного контроля гемофилеза в промышленном птицеводстве и сохранения планово-экономических показателей птицеводческих хозяйств на высоком уровне.

Разработанный метод определения эффективности инактивированных вакцин против гемофилеза птиц, основанный на использовании капельной РА на стекле с целью оценки антигенной активности вакцины по уровню поствакцинальных антител к *A. paragallinarum*, является более гуманной и простой альтернативой контролльному заражению птиц, что существенно облегчает и удешевляет проведение контроля качества вакцин «АВИВАК-КОРИЗА» и «ГЕМОВАК».

Разработанные промышленные регламенты на изготовление инактивированных вакцин против гемофилеза птиц «АВИВАК-КОРИЗА» и «ГЕМОВАК» позволяют осуществлять серийное производство вакциновых препаратов.

Согласно разработанному и утвержденному СТО 4262188-0008-2017 в отделе контроля качества НПП «АВИВАК» проводят контроль качества производственных серий вакцины «АВИВАК-КОРИЗА».

Для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза птиц в форме суспензии в качестве адьюванта рекомендовано использовать высокомолекулярный полимер акриловой кислоты Carbomer 940 Powder, который позволяет получить эффективный ареактогенный иммунобиологический препарат для специфической профилактики пастереллеза птиц.

Основываясь на положительных результатах доклинических и клинических испытаний вакцин, адьювант Montanide ISA 71 VG включен в промышленные регламенты на производство вакцины против гемофилеза птиц инактивированной

эмulsionционной «АВИВАК-КОРИЗА» и инактивированной эмульсионной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц «АВИВАК-РМ».

Инактивированные вакцины против гемофилеза «АВИВАК-КОРИЗА», пастереллеза «АВИВАК-ПАСТОВАК» и респираторного микоплазмоза птиц «АВИВАК-РМ» широко используются на территории РФ, а также странах ближнего (Белоруссия, Казахстан, Узбекистан, Таджикистан и др.) и дальнего зарубежья (Иран, Сирия, Кот-д'Ивуар, Нигерия и др.). Использование данных вакцин в промышленном птицеводстве согласно инструкциям по применению позволяет создать стабильное эпизоотическое благополучие птицеводческих хозяйств в отношении гемофилеза, пастереллеза и респираторного микоплазмоза птиц и способствует получению безопасной доброкачественной продукции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Использование разработанных, усовершенствование имеющихся и создание новых вакцин против инфекций бактериальной этиологии является крайне необходимым и перспективным направлением специфической профилактики бактериальных болезней птиц в промышленном птицеводстве.

Правильный выбор вакцины, подбор оптимального метода и времени ее применения с учетом эпизоотической ситуации в хозяйстве являются ключевыми инструментами в контроле и профилактике инфекционных болезней птиц. Но наряду со множеством плюсов использования инактивированных вакцин существует вероятность проявления их остаточной реактогенности.

Окончательно решить проблему реактогенности инактивированных противобактериальных вакцин можно за счет использования более безопасных адьювантов нового поколения и применения субъединичных антигенных комплексов бактерий без содержания «балластных» клеточных структур микробной клетки.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК

Министерства науки и высшего образования РФ

1. Крохин, Н.Л. Вакцинопрофилактика, одно из ключевых звеньев в профилактике гемофилеза птиц / Н.Л. Крохин, М.Г. Теймуразов, Т.Н. Рождественская, А.В. Рузина, **С.В. Панкратов**, С.С. Яковлев // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 7. – С. 33-34.

2. Рождественская, Т.Н. Испытание новых адьювантов SEPPIC для

изготовления вакцин против гемофилеза птиц / Т.Н. Рождественская, **С.В. Панкратов**, Е.В. Сапегина, Е.В. Томина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2020. – № 11. – С. 23-27.

3. Рождественская, Т.Н. Современные подходы к изготовлению инактивированных вакцин против пастереллеза птиц / Т.Н. Рождественская, Л. Каримова, **С.В. Панкратов** [и др.] // Аграрная наука. – 2022. – № 7-8. – С. 68-73.

4. **Панкратов, С.В.** Испытание масляных адьювантов для изготовления вакцины против респираторного микоплазмоза птиц / С.В. Панкратов, Н.Ю. Серова, А.А. Сухинин [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2022. – № 4(21). – С. 8-15.

5. **Панкратов, С.В.** Современные подходы в диагностике пастереллеза птиц / С.В. Панкратов, С.Р. Абгарян // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 68-71.

6. Теймуразов, М.Г. *Bordetella avium* и *Bordetella hinzii*, выделенные от промышленной птицы из хозяйств РФ / М.Г. Теймуразов, О.В. Тазина, А.А. Абаимова, М.Е. Платонов, Т.Б. Манин, А.В. Рузина, **С.В. Панкратов** // Ветеринария. – 2023. – № 7. – С. 11-17.

7. **Панкратов, С.В.** Противобактериальные вакцины для птиц, изготовленные на основе адьюванта ICTYOLANETM 11 / С.В. Панкратов // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 50-53.

8. **Панкратов, С.В.** Использование MONTANIDE ISA 78 VG в качестве адьюванта при изготовлении противобактериальных вакцин для кур / С.В. Панкратов // Аграрная наука. – 2024. – № 8. – С. 51-55.

9. Украинская, О.А. Проблемы и перспективы развития российского индейководства / О.А. Украинская, **С.В. Панкратов** // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 3. – С. 105-110.

10. **Панкратов, С.В.** Специфическая профилактика инфекционных болезней индеек / С.В. Панкратов, О.А. Украинская, Д.Х. Касимов, И.В. Климанович // Ветеринария. – 2024. – № 12. – С. 11-15.

Публикации, индексируемые в Web of Science

11. Nikitin, G. Adjuvants for inactivated vaccine against *Avibacterium paragallinarum* / G. Nikitin, **S. Pankratov**, A. Sukhinin [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1.

Патенты

12. Патент № 2752315 С1 Российская Федерация, МПК A61K 39/102, A61P 31/04. Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная в форме суспензии "Гемовак" / Рождественская Т.Н., Гулюкин А.М., Степанова Т.В., Теймуразов М.Г.,

Петкович Д.Д., Рузина А.В., **Панкратов С.В.**, Уткина Т.В., Сапегина Е.В., Томина Е.В.; номер заявки: 2020125522; дата регистрации: 31.07.2020; дата публикации: 26.07.2021.

Монографии

13. Диагностика, профилактика и лечение бактериальных болезней птиц /Т.Н. Рождественская, А.В. Рузина, Н. В. Васюков, А.В Супова, А.В. Хабарова, Е.В. Сапегина, Е.В. Томина, Д.Х. Касимов, Н.Ю. Серова, Т.В. Уткина, С.С. Яковлев, **С.В. Панкратов**. – Москва: ООО "Издательство "Спутник+", 2023. – 207 с.

Статьи в отраслевых журналах, материалах международных и всероссийских конференций, сборниках научных трудов и других научно-практических изданиях

14. Рождественская, Т.Н. Респираторный синдром - открытые ворота для инфекции / Т.Н. Рождественская, **С.В. Панкратов**, А.В. Рузина, О.Б. Новикова // Птица и птицепродукты. – 2020. – № 6. – С. 40-42.

15. **Панкратов, С.В.** Респираторный синдром птиц. Эtiология, диагностика, меры борьбы и профилактики / С.В. Панкратов, Т.Н. Рождественская, А.А. Сухинин, А.В. Рузина // Птица и птицепродукты. – 2021. – № 4. – С. 34-36.

16. Рузина, А.В. Ретроспективная диагностика гемофилеза птиц с использованием РА / А.В. Рузина, Т.Н. Рождественская, **С.В. Панкратов**, Е.В. Томина // Птица и птицепродукты. – 2021. – № 5. – С. 45-47.

17. Серова, Н.Ю. Профилактика респираторного микоплазмоза птиц с использованием инактивированных вакцин / Н.Ю. Серова, **С.В. Панкратов**, А.В. Рузина // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, Лосино-Петровский, 27–28 октября 2022 года. – Лосино-Петровский: Б. и., 2022. – С. 18-24.

18. **Панкратов, С.В.** Адьюванты для изготовления инактивированных вакцин против гемофилеза птиц / С.В. Панкратов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и лабораторной диагностики: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.В. Рудакова, СПб, 25–26 мая 2023 года. – СПб: ВО ФБГУ СПбГУВМ, 2023. – С. 228-231.

19. **Панкратов, С.В.** Вакцинопрофилактика пастереллеза птиц / С.В. Панкратов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 27-31.

20. Рузина, А.В. Ассоциированное течение сальмонеллеза и колибактериоза

у птицы в условиях промышленного выращивания / А.В. Рузина, Н.В. Васюков, Т.Н. Рождественская, **С.В. Панкратов** // Птица и птицепродукты. – 2023. – № 1. – С. 49-52.

21. Рождественская, Т.Н. Испытание масляных адьювантов для изготовления вакцины против пастереллеза птиц / Т.Н. Рождественская, Л. Каримова, **С.В. Панкратов** [и др.] // Сборник статей Научно-практической конференции "Современные научные разработки и передовые технологии для промышленного птицеводства", СПб, 12–14 июля 2023 года. – СПб: ООО "Медиапапир", 2023. – С. 109-117.

22. Рождественская, Т.Н. Респираторный синдром птиц / Т.Н. Рождественская, **С.В. Панкратов**, А.В. Рузина, О.Б. Новикова // Сборник статей Научно-практической конференции "Современные научные разработки и передовые технологии для промышленного птицеводства", СПб, 12–14 июля 2023 года. – СПб: ООО "Медиапапир", 2023. – С. 124-128.

23. Рождественская, Т.Н. Система обеспечения эпизоотического благополучия птицеводческих хозяйств в отношении бактериальных болезней птиц / Т.Н. Рождественская, А.В. Рузина, **С.В. Панкратов**, С. С. Яковлев // Сборник статей Научно-практической конференции "Современные научные разработки и передовые технологии для промышленного птицеводства", Санкт-Петербург, 12–14 июля 2023 года. – СПб: ООО "Медиапапир", 2023. – С. 76-89.

24. **Панкратов, С.В.** Диагностика пастереллеза птиц / С.В. Панкратов // Достижения и проблемы ветеринарной медицины на Крайнем Севере Российской Федерации: Сборник материалов международной научно-практической конференции, посвященной 115-летию организации Якутской бактериологической лаборатории и проведения научных исследований по ветеринарной медицине в Якутии, Якутск, 07–08 декабря 2023 года. – Якутск: ООО «Компания «Дани-Алмас», 2024. – С. 364-368.

25. **Панкратов, С.В.** Особенности лабораторной диагностики пастереллеза птиц / С.В. Панкратов // Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развитии сельских территорий: Сборник материалов V международной научно-практической конференции, Луганск, 25 января – 08 февраля 2024 года. – Луганск: ГОУ ВО ЛНР ЛГАУ, 2024. – С. 116-118.

26. **Панкратов, С.В.** Адьюванты для инактивированных вакцин против бактериальных болезней птиц / С.В. Панкратов // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии: Сборник материалов VI международного конгресса, Санкт-Петербург, 15-17 мая 2024 года. – СПб: Изд-во ЛЕМА, 2024. – С. 101-103.

27. **Панкратов, С.В.** Вакцина против гемофилеза птиц, изготовленная на основе Montanide ISA 71 VG / С.В. Панкратов // Национальная научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биотехнологии»: сб. науч. тр. Кинель: ИБЦ Самарского ГАУ, 2024. – С. 122-126.
28. **Панкратов, С.В.** Изготовление инактивированной вакцины против пастереллеза птиц с использованием различных адьювантов / С.В. Панкратов // Биотехнология: научные исследования и связь с производством: Материалы Международной научно-практической конференции, Лосино-Петровский, 30–31 октября 2024 года. – Лосино-Петровский: ФГБНУ ВНИТИБП, 2024. – С. 144-148.
29. **Панкратов, С.В.** Диагностика гемофилеза птиц / С.В. Панкратов, Е.И. Приходько // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: состояние и решения: Сборник статей по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию со дня основания факультета ветеринарной медицины, Краснодар, 21–22 ноября 2024 года. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина, 2024. – С. 109-116.
30. **Панкратов, С.В.** Диагностика и специфическая профилактика пастереллеза птиц / С.В. Панкратов // Инновационные решения актуальных вопросов биологической, токсикологической и радиационной безопасности для АПК: СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ Международной научно-практической конференции, посвящённой памяти профессора Х.Х. Абдуллина, Казань, Научный городок-2, 28–29 ноября 2024 года. – Казань: ФГБНУ "ФЦТРБ-ВНИВИ", 2024. – С. 152-154.
31. **Панкратов, С.В.** Использование разных видов адьювантов в изготовлении инактивированной вакцины против гемофилеза птиц / С.В. Панкратов // Теория и практика клинической биохимии и лабораторной диагностики: Материалы международной научно-практической конференции, посвященные 105-летию кафедры биохимии и физиологии СПбГУВМ, СПб, 17–18 декабря 2024 года. – СПб: Перевощикова Ю.В., 2024. – С. 101-103.