

Баннов Дмитрий Владимирович

**РАЗРАБОТКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ ПОВЫШЕНИЯ  
ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ НИЗКОПАТОГЕННОГО  
ГРИППА ПТИЦ (H9N2) В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО  
ПТИЦЕВОДСТВА**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных  
4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и  
токсикология

**Автореферат**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата ветеринарных наук

Казань 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южно-Уральский государственный аграрный университет»

**Научные руководители:** **Журавель Нина Александровна**,  
доктор ветеринарных наук, доцент  
**Мифтахутдинов Алевтин Викторович**  
доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Коба Игорь Сергеевич** – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии и организации ветеринарного дела ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

**Семёнов Владимир Григорьевич** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный аграрный университет»

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «10» декабря 2024 года в 13<sup>30</sup> часов на заседании диссертационного совета 35.2.016.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://kazanveterinary.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2024г., размещен на сайтах: <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://kazanveterinary.ru>

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Юлия Вадимовна Ларина

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Проблема распространения вируса гриппа птиц носит глобальный характер. Грипп птиц, вызываемый вирусом подтипа H9N2 типа «А», составляет значительную проблему не только для птицеводства, но и для человечества в общемировом масштабе. Вирус гриппа типа «А» характеризуется высокой изменчивостью, что обусловлено двумя особенностями генома - первое свойство, фрагментарность генома вируса, обеспечивает возможность обмена генами между двумя вирусами одного типа, а также антигенный шифт. Второе свойство вирусов гриппа – изменчивость их гликопротеидов – гемагглютинина (НА) и нейраминидазы (НА) в результате мутаций (Awuni J. A. et al., 2019; Ghedin E. et al., 2005). В настоящее время известно 16 подтипов гемагглютинина и 9 подтипов нейраминидазы (Варкентин А. В. и др., 2014).

Согласно кодексу Всемирной организации здравоохранения животных, грипп птиц, подлежащий обязательной международной нотификации, разделяют на высокопатогенный грипп птиц и низкопатогенный грипп птиц (2019). Высокопатогенный грипп птиц обязательной декларации вызывают вирусы подтипов H5 и H7 любого уровня патогенности. Для предприятий птицеводческой отрасли вирус представляет непосредственную угрозу, так как в случае возникновения очага заболевания высокопатогенным штаммом вся птица подлежит уничтожению и на предприятие накладывается карантин (Сосипаторова В. Ю., 2018). Помимо вирусов гриппа птиц, подлежащих обязательной нотификации, в мире выявляют вирусы гриппа, не требующего уведомления Международного эпизоотического бюро. К таковым относят вирусы подтипов H3, H4, H6, H9 и других, не являющихся высоковирулентными. Важным значением для предотвращения развития пандемии и нормального функционирования промышленного птицеводства имеют также низкопатогенные штаммы вируса (Варкентин А. В. и др., 2014, Волков М. С. И др., 2019, 2022; Сивай М. В. и др., 2016; Kim K. I. et al., 2013).

Из-за экономического ущерба, нанесенного энзоотическим низкопатогенным вирусом H9N2, многие страны, включая Китай, Израиль, Южную Корею, Марокко, Пакистан, Египет, Иран и ОАЭ, приняли вакцинацию на национальном или местном уровне в качестве ключевого подхода к профилактике заболевания. В условиях крупного промышленного производства птицеводческой продукции важным аспектом является то, что специфический инфекционный фон и система вакцинаций вирусных заболеваний птиц могут оказать влияние на эффективность вакцинации от птичьего гриппа, поэтому приоритет при выборе вакцины и решение о целесообразности вакцинации целого региона может быть получено только путем натуральных испытаний и экспериментальной проверкой с оценкой патоморфологических изменений в организме, которые могут вызвать вакцинные штаммы возбудителя (Садовников Н. В., Шараевская И. М., 2016).

В Российской Федерации на 01.12.2023 г. зарегистрировано 8 препаратов, разрешенных к применению с целью профилактики гриппа птиц. Из них для предупреждения высокопатогенного гриппа птиц применяются две вакцины,

включающие штамм «Ямал» и «Новосибирский». С целью недопущения низкопатогенного гриппа птиц на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах граждан в зоне высокого риска на территории нашей страны применяют вакцину против гриппа птиц инактивированную эмульгированную, изготовленную Армавирской биофабрикой, ФГБУ «ВНИИЗЖ», и вакцину «ГриппарМ», которые содержат штамм H9N2, а также ряд поливалентных биопрепаратов: «Авивак-НБ-ГП-Н9» и «Авивак-НБ-ГП-Н9-ПНЕВМО», содержащие штамм A/chicken/Syberia/03/2018 (H9N2) линии G1-like, Вирсин 276, включающий штамм «215», предназначенные для применения в птицеводческих хозяйствах различного направления выращивания, а также для вынужденной вакцинации в неблагополучных и угрожаемых хозяйствах с целью купирования инфекции. Вакцина ассоциированная против гриппа птиц (H9N2) и Ньюкаслской болезни птиц инактивированная эмульсионная, содержащая штамм «A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like» и штамм «Челябинск-20», используется на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах граждан в зонах высокого риска. Учитывая свойства возбудителя болезни, не всегда удается достичь желаемого уровня иммунного ответа при проведении вакцинации (Варкентин А. В. и др., 2009, 2018; Донник И. М. и др., 2009).

Несмотря на большой ассортимент средств для профилактики гриппа птиц высокая антигенная вариабельность, постоянные мутации вызывают необходимость изыскания не только эффективных биопрепаратов (Варкентин А. В. и др., 2009, 2016, 2018; Глушенкова Ю. А. и др., 2021; Донник И. М. и др., 2009; Костина Л. В., 2017.; Львов Д. К. и др., 2009; Фролов А. В. и др., 2007, 2020; 2023; Peacock T. P. et al., 2018; Swayne D. E., 2006), но также способов повышения эффективности иммунизации птицы против этой вирусной болезни (Дихтярук И. Н., 2020; Мифтахутдинов А.В. и др., 2015; 2019; 2020; Пономаренко В. В., 2016), обуславливая актуальность текущего исследования. Мировое научное сообщество продолжает работать над контролем и предотвращением распространения гриппа птиц, с целью минимизации риска заболевания как у людей, так и у животных.

**Степень разработанности темы исследования.** Ряд выдающихся отечественных: А. В. Варкентин, М. С. Волков, Э. Д. Джавадов, Ирза В. Н. с соавторами (2018, 2019, 2020, 2021), Ю.М. Васильев (2008, 2010, 2014) и зарубежных ученых: D. E. Swayne et al. (2011), T. Peacock et al. (2019), C. Hautefeuille et al. (2020), E. Spackman, M. J. Pantin-Jackwood (2014) успешно занимались и продолжают заниматься решением проблемы гриппа птиц. Вопросы специфической профилактики гриппа, в том числе гриппа птиц, включая клинические испытания биопрепаратов, являлись актуальными с начала XXI века (Васильев Ю. М. и др., 2008, 2010, 2013; 2014). На основании ряда исследований динамики иммунного ответа у птиц после введения экспериментальных образцов вакцин против гриппа птиц была установлена наибольшая антигенная активность ряда биопрепаратов, что имело огромное практическое значение (Иголкин А.С. и др., 2007). Другими, более современными исследованиями доказана целесообразность использования

разных антигенных компонентов в составе инактивированных вакцин против низкопатогенного гриппа птиц (Осипов О.С. и др., 2022; Фролов С.В. и др., 2021). Изучены вопросы влияния специфических материнских антител на формирование активного иммунитета у суточных цыплят, привитых инактивированной эмульсионной вакциной против гриппа птиц низкопатогенного штамма (Енгашев С.В. и др., 2022).

Развитие неспецифических адаптационных реакций и стресса негативно влияют на поствакцинальную сероконверсию и уровень напряженности иммунитета. Данные аспекты и иммуносупрессивные механизмы описаны в работах отечественных и зарубежных ученых: А. Ш. Кавтарашвили, Т. Н. Колокольникова (2010); В. И. Фисинин, П. Сурай (2011); Э. Д. Джавадов (2018); В.И. Фисинин, А.В. Мифтахутдинов и др. (2015); S. Puvadolpirod, J. P. Thaxton (2000), С. Hautefeuille et al. (2020) и других. Учитывая особенности содержания птицы, на поствакцинальный стресс накладываются другие стресс-факторы, в конечном итоге усугубляющие снижение уровня формирования иммунного ответа (Бабин Г. Ю. И др., 2022; Мифтахутдинов А.В. и др., 2021, 2022; Посохова И. А., 2021; Song M., 2020; Wein Y., 2017).

Разработки методов повышения эффективности вакцин против гриппа птиц ориентированы на применение различных препаратов, существенно повышающих иммунный ответ и защитную эффективность не только к гомологичным, но и дрейфовым вариантам вирусов (Румянцев А. М. и др., 2021).

В. И. Фисинин с соавт. (2015), А. В. Мифтахутдинов с соавт. (2011, 2015, 2021, 2022) доказали адаптационные свойства фармакологического комплекса СПАО. Способность СПАО-комплекса регулировать баланс факторов, обеспечивающих формирование так называемой «комфортной зоны» для птицы, позволило получить положительные результаты исследований при изучении его влияния на серологический статус птиц на фоне вакцинации против ряда вирусных болезней (Мифтахутдинов А. В., Аминева Э. М., 2019; Пономаренко В. В., 2016), в том числе против Ньюкаслской болезни (Мифтахутдинов А. В., Дитярук И. Н., 2020), реовирусной инфекции (Мифтахутдинов А.В. с соавт., 2021), которые продемонстрировали также экономическую эффективность (Дитярук И.Н., 2020). Вместе с тем данные по влиянию фармакологического комплекса СПАО на формирование иммунного ответа при вакцинации птицы против низкопатогенного гриппа птиц отсутствуют.

**Цель исследований** – разработка способов повышения эффективности вакцинации против низкопатогенного гриппа птиц (H9N2) в условиях промышленного птицеводства путем научно-обоснованного подбора иммунобиологических и антистрессовых фармакологических средств.

**Задачи исследований:**

- изучить особенности возникновения низкопатогенного гриппа птиц H9N2 на крупной птицефабрике Челябинской области, установить кинетику антител в крови зараженной птицы, клинические, патологоанатомические проявления болезни и производственные показатели;

- определить иммунный ответ и продуктивность кур на фоне применения вакцин против гриппа птиц (H9N2);
- установить способность вакцины против низкопатогенного гриппа птиц создавать трансвариальный иммунитет;
- изучить токсичность и переносимость СПАО-комплекс и ацетилсалициловой кислоты при сочетанном применении в однократных, трех, пяти и десятикратных терапевтических дозах;
- оценить иммунный ответ после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, на фоне антистрессовой терапии;
- изучить молекулярно-генетическую структуру изолятов вируса и экономические потери в связи с распространением заболевания;
- провести сравнительную оценку иммунного ответа при применении разных вакцин против гриппа птиц (H9N2);
- разработать метод повышения эффективности вакцинации после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2) путем применения антистрессовых фармакологических средств и дать экономическую оценку целесообразности их применения;
- изучить особенности иммунного ответа в зависимости от половой принадлежности птиц и установить особенности формирования поствакцинального иммунитета.

**Научная новизна.** Впервые для повышения сероконверсии поствакцинальных антител в организме кур к вирусу гриппа птиц (H9N2) использовано фармакологическое средство, обладающее антистрессовым и антиоксидантным действием. В сравнительном аспекте изучена эффективность средств разных фармакологических групп для повышения эффективности вакцинации от низкопатогенного гриппа птиц. Молекулярно-генетическими исследованиями доказано, что в Челябинской области помимо сублинии Y280-like штамма вируса H9N2 циркулирует и вызывает заболевание линия вируса G1-like. Проведен анализ вспышки заболевания с экономической оценкой и экспериментальным путем доказано, что для повышения эффективности вакцинации необходимо в вакцины включать все варианты вируса G1, Y280, Y439 штамма H9N2, циркулирующие на территории Российской Федерации. Впервые дано обоснование влияния половой принадлежности на формирование поствакцинального иммунного ответа против низкопатогенного гриппа птиц. Впервые экспериментально доказано, что сочетанное применение СПАО-комплекс и ацетилсалициловой кислоты не приводит к повышению токсичности и хорошо переносится цыплятами даже при применении в пятикратных и десятикратных дозах. Научная новизна исследований подтверждена патентами на изобретение «Способ повышения эффективности вакцинации птиц против вируса гриппа» № RU 2805265 C1, «Способ повышения эффективности промышленного выращивания цыплят-бройлеров» № RU 2785659.

**Практическая значимость работы.** В условиях племенного репродуктора промышленного типа описаны клиническая и

патологоанатомическая картина проявления вспышки низкопатогенного гриппа птиц, подтверждаемая результатами серологических исследований и продуктивностью птицы. Получены данные об индексах вакцинации, коэффициентах вариации и особенностях нарастания титров антител против гриппа птиц, что позволило определить иммуногенные свойства различных вакцин в конкретных производственных условиях предприятий Челябинской области. Установлена степень влияния антистрессовых фармакологических средств на активность иммунной системы, иммунобиологическое действие вакцин, доказана их безопасность и хорошая переносимость в терапевтических дозах. В условиях крупного промышленного птицеводческого предприятия по результатам исследований решен вопрос о целесообразности вакцинации кур от гриппа птиц и дан прогноз возможных последствий применения изученных иммунобиологических препаратов.

Представленный инновационный подход предполагает использование стресс-протектора целенаправленного действия, который обеспечивает подавление стрессовой реакции на уровне гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и специфического антиоксидантного действия для подавления развития оксидативного стресса в организме.

Результаты исследований внедрены в производственные условия птицеводческого комплекса, представлены в виде монографии.

Отдельные положения, полученные при выполнении диссертационной работы, внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Южно-Уральский ГАУ», ФГБОУ ВО «ГАУ Северного Зауралья».

**Методология исследования.** Методологически диссертационная работа основана на применении эпизоотических, фармакологических, токсикологических, серологических, иммунологических, молекулярно-генетических, клинических и патоморфологических методов исследования, применении фармакологических средств, обладающих антистрессовым действием и изучение их влияния на процесс формирования иммунитета. Экономическую оценку проводили согласно общепринятой методике (1997) с учетом адаптированных для птицеводства рекомендаций (Журавель Н. А., Мифтахутдинов А. В., 2017, 2018, 2019, 2020). Достоверность результатов исследований оценивали математическими методами с использованием статистических процедур программ для ПК «Microsoft Excel» и «Statistica 12».

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- низкопатогенный грипп птиц с преимущественным выделением штамма H9N2 сублиний G1 и Y280 обуславливает высокие экономические потери в промышленном птицеводстве;

- фармакологические средства СПАО-комплекс и Астравит не обладают токсичностью, безопасны, в схеме иммунизации против гриппа птиц H9N2 за счет стресс-протекторного действия способствуют более интенсивной выработке антител и повышению однородности иммунитета и сохранности птиц;

- вакцина для профилактической иммунизации против гриппа птиц H9N2 должна включать все варианты вируса G1, Y280, Y439, при несоответствии

вакцинных и циркулирующих линий стресс-протекторы не позволяют добиться высоких результатов вакцинации;

- иммунный ответ при вакцинации против гриппа птиц N9N2 зависит от половой принадлежности птицы.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов исследований, основных положений и научных выводов диссертации подтверждена большим объёмом проведённых научных исследований и применением комплекса методов, позволяющим получить объективные результаты и сформулировать логичные выводы по работе. Результаты исследований были представлены на Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы аграрной науки и пути их решения», посвящённая 85-летию со дня рождения профессора М.Н. Фисуна (Нальчик, 2023 г.), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные решения актуальных вопросов биологической и токсикологической безопасности» (Казань, 2023 г.), Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные решения приоритетных задач токсикологии и биотехнологии» (Казань, 2023 г.), Национальной (Всероссийской) научной конференции «Современная аграрная наука: теория и практика» (Троицк, 2023 г.).

Результаты диссертационных исследований включены в конкурсные проекты и отмечены дипломами I степени и золотыми медалями XXIV Всероссийской агропромышленной выставки «Золотая осень 2022» (г. Москва), X Межрегиональной агропромышленной выставки УРФО-2022 (г. Екатеринбург), региональной выставки АГРО-2022 (г. Челябинск).

**Личный вклад соискателя.** Представленная работа является результатом самостоятельных исследований соискателя, выполненных в период с 2017 по 2023 гг. Личное участие диссертанта заключается в выборе темы работы, обосновании и разработке методов исследований, алгоритмов исследований, непосредственном выполнении теоретических и экспериментальных исследований, интерпретации результатов и оформлении диссертации.

**Публикация результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, 1 – монография, 2 патента РФ на изобретение.

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 207 страницах компьютерного текста. Структура диссертационной работы включает следующие разделы: «Введение», «Основная часть», «Заключение», «Список литературы». Работа иллюстрирована 99 рисунками, 26 таблицами, содержит 8 приложений. Библиографический список включает 164 источника, из них 42 – на иностранном языке.



## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### 2 Результаты собственных исследований и их обсуждение

#### 2.1 Материалы и методы исследований

Диссертационное исследование выполнено на кафедрах Морфологии, физиологии и фармакологии и Инфекционных болезней и ветеринарно-санитарной экспертизы Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный аграрный университет» в период с 2017 по 2023 гг. Часть исследований выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Изучение адаптивного иммунного ответа к вирусу гриппа птиц на фоне развития вакцинальных стрессов и разработка методов повышения эффективности иммунизации в условиях промышленного птицеводства» по заказу Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в 2022 г. (номер Государственного учета ЕГИСУ НИОКТР 122031400767-1).

Основным объектом экспериментальной части исследований явилось крупное промышленное птицеводческое предприятие, входящее в агрохолдинг «СИТНО» – ООО «Нагайбакский птицеводческий комплекс» (23 промышленных цеха). Часть исследований была проведена в условиях 10 производственных участков ООО «Чебаркульская птица». Предметом исследований были показатели, отражающие влияние фармакологических способов на эффективность вакцинации против низкопатогенного гриппа птиц (H9N2) в условиях промышленного птицеводства. Для экспериментальных исследований использовали цыплят-бройлеров и ремонтный молодняк кросса ROSS-308.

Исследования включали два блока. Первый блок исследований заключался в анализе вспышки гриппа птиц: проведен анализ клинических признаков, патологоанатомических изменений, изучены кинетика антител в крови зараженной птицы, производственные показатели. Второй блок исследований включал разработку фармакологических способов повышения эффективности вакцинации против низкопатогенного гриппа птиц (H9N2).

Для определения иммунного ответа на фоне применения вакцин против гриппа птиц (H9N2) птицу 12 цехов производственного участка 3 агрохолдинга «СИТНО» прививали вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, птицу 10 партий кур родительского стада ООО «Чебаркульская птица» – штамм A/chicken/Syberia/03/2018 (H9N2) линии G1-like.

С целью установления способности вакцины против низкопатогенного гриппа птиц создавать трансвариальный иммунитет был определен уровень антител в крови птиц при рождении (0 дней) в условиях трех птичников (цех 7, цех 8 и цех 9 производственного участка 1), занимающихся производством инкубационного яйца, одного птичника (цех 7 производственного участка 2) – производством мяса бройлеров.

Перед проведением производственного эксперимента по изучению влияния СПАО-комплекса отдельно и в сочетании с ацетилсалициловой кислотой (в виде препарата Паратерм) на сероконверсию при иммунизации

птиц вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like была проведена оценка токсичности и переносимости сочетанного применения СПАО-комплекса и ацетилсалициловой кислоты.

Для оценки токсического действия в условиях клеточного содержания были сформированы 4 группы цыплят в возрасте 10 суток кросса Ross 308 по 30 голов в каждой группе. Цыплята первой группы получали индивидуально с водой однократную терапевтическую дозу СПАО-комплекса 185 мг/кг массы тела и препарат Паратерм в дозе 70 мг/кг массы тела. Цыплята второй и третьей опытных групп получали пятикратную и десятикратную терапевтическую дозу, что соответствует 925 мг/кг СПАО-комплекса и 350 мг/кг Паратерма и 1850 и 700 мг/кг соответственно. Цыплята четвертой группы служили контролем и вместо препаратов получали аналогичное количество воды. Наблюдение за цыплятами осуществляли в течение 14 суток, в 10, 11, 14 и 21 суточном возрасте проводили взвешивание цыплят групповым способом. Взятие крови для проведения биохимического анализа осуществляли в 14 суточном возрасте.

Для оценки переносимости СПАО-комплекса в сочетании с препаратом Паратерм были сформированы 4 группы цыплят возрастом 10 суток кросса Ross 308 в условиях клеточного содержания по 30 голов в каждой группе. Цыплята первой группы получали индивидуально с водой один раз в день в течение пяти суток терапевтическую дозу СПАО-комплекс 185 мг/кг массы тела и препарат Паратерм в дозе 70 мг/кг массы тела. Цыплята второй и третьей опытных групп получали трехкратную и пятикратную терапевтическую дозу один раз в день в течение пяти суток, что соответствует однократной дозе – 555 мг/кг СПАО-комплекс и 210 мг/кг Паратерм и 925 и 350 мг/кг соответственно. Цыплята четвертой группы служили контролем и вместо СПАО-комплекса и Паратерма получали аналогичное количество воды. Наблюдение за цыплятами осуществляли в течение 10 суток, в 10, 11, 14 и 21 суточном возрасте проводили взвешивание цыплят групповым способом. Взятие крови для проведения биохимического анализа осуществляли у цыплят 2, 3 и 4 групп через 10 суток после последнего введения фармакологических средств.

Для оценки иммунного ответа после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like на фоне антистрессовой терапии в условиях производственного участка 1 были сформированы три группы птиц (цеха №№ 7, 8 и 9). Курам цеха № 8 применяли СПАО комплекс (первая опытная группа), цеха № 9 – СПАО-комплекс в сочетании с ацетилсалициловой кислотой в виде препарата Паратерм (вторая опытная группа). Куры цеха № 7 служили контролем. СПАО-комплекс выпаивали через систему медикаторов в терапевтической дозе перед за три дня до вакцинации, в день вакцинации и в течение одного дня после её проведения. Ацетилсалициловую кислоту вводили в виде препарата Паратерм с водой в дозе 300 г на 1 тонну воды. У птицы была взята кровь через 28 дней после введения биопрепарата.

Так как были получены результаты, свидетельствующие о недостаточном уровне поствакцинального иммунитета после применения вакцины против

гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, на пятом этапе проведен филогенетический анализ изолятов вируса гриппа, выделенных в Челябинской области и сопоставления их с известными вакцинными штаммами, применяемыми для профилактики гриппа птиц H9N2. Определение генетической линии гриппа птиц тип А субтипа Н9 методом секвенирования проводили в ООО «Экспертная Лаборатория». Нуклеотидные последовательности локальных изолятов вируса гриппа птиц сравнивали с последовательностями, принадлежащими к основным линиям вируса гриппа птиц Н9 основе длины 488 пар оснований (151-638) нуклеотидной последовательности гена вируса гриппа птиц Н9. Было проведено сопоставление фрагмента нуклеотидной последовательности генов выделенного изолята и сопоставление полученных результатов с имеющимися вакцинными штаммами, применяемых при производстве вакцин против гриппа птиц, включая биопрепараты, изготавливаемые ФГБУ «ВНИИЗЖ», ООО «Интервет», Voenger-ingenheim, ABIC ISRAIL. Всего для сравнения было использовано 92 штамма H9N2 ранее выделенных по всему миру вирусов.

Сравнительную оценку иммунного ответа на фоне применения разных вакцин против гриппа птиц (H9N2) проводили в условиях четырёх цехов производственного участка 3 через 28 дней после иммунизации. Птице цехов №№ 5, 6, 8 применяли вакцину против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, цеха № 7 – штамм UAE/415/99 сублинии G1-like.

С целью разработки метода повышения эффективности вакцинации на фоне развития вакцинальных стрессов в условиях производственного участка 1 было сформировано две группы курочек. Птица контрольной (цех № 3) и опытной (цех № 2) групп в возрасте 54 дней были иммунизированы указанной вакциной. В опытной группе птице выпаивали СПАО-комплекс по указанной выше схеме и дозе. В контрольной группе согласно базовой технологии выращивания птицы на птицефабрике в поствакцинальный период применяли кормовую добавку Астравит™. Оценка эффективности вакцинации проводили через 26 дней после иммунизации, а также в более долгосрочный период – через 50, 65 и 119 дней.

Для изучения особенностей иммунного ответа в зависимости от половой принадлежности птиц в условиях производственного участка 1 было сформировано две группы птиц. Курочки (цех № 3) и петушки (цех № 1) в возрасте 54 дней были иммунизированы указанной вакциной. Оценка эффективности вакцинации проводили через 26 дней после иммунизации (возраст птицы был 70 дней), а также в более долгосрочный период – через 50, 65 и 119 дней, возраст птиц был 104, 119 и 173 дня соответственно.

Вакцины вводили согласно наставления по их применению. Для оценки иммунного ответа в каждой группе птиц было отобрано 25 проб крови. Количественное определение уровня антител осуществлялась с использованием теста IDEXX MultiS-Screen. Считывание результатов производили с помощью спектрофотометра Тесан (Австрия). Результат считали положительным при титре 1:1280 и выше. Вакцинацию считали успешной, если не менее чем у 80 %

привитых птиц титр антител был выше защитного уровня. Интерпретацию результатов вакцинации проводили путём оценки основных компонентов гуморального ответа после введения вакцины: интенсивность формирования антител, однородность титров и индекс вакцинации.

Экономический анализ проводили по общепринятой методике (1997) с учётом рекомендаций И.Н. Никитина (2022) и авторской методики, адаптированной к птицеводству (Журавель Н.А., Мифтахутдинов А.В., Никитин И.Н. и др., 2017; 2018; 2019; 2020; 2021; 2022).

Полученные в эксперименте данные обрабатывали статистически на персональном компьютере с помощью программы STATISTICA 12.

## **2.2 Анализ вспышки низкопатогенного гриппа птиц**

При анализе вспышки гриппа птиц H9N2 было установлено снижение поголовья птицы. К 52 неделе жизни поголовье курочек было сокращено более чем в 2 раза до 16664 голов и к 54 недели жизни родительского поголовья было снято с производственного цикла, на 10 недель раньше планируемого производственного цикла. Важнейший производственный показатель, характеризующий итог работы с родительским стадом кур – вывод цыплят из яиц. В расчете на 1 условную несушку получено в среднем 44,5 цыплят, при норме в 66,1. Показатель имел статистически выраженные отличия ( $P=0,0259$ ).

Клинические проявления включали непродолжительный отказ от корма в продромальный период, скученность, взъерошенное оперение, снижение продуктивности, яйценоскости; комплекс респираторных симптомов: чихание, хрипы, слезотечение, ларингит, трахеит, образование казеозных пробок в нижней части трахеи, удушье птицы, статистически выраженное снижение массы яиц и их деформация. Патологоанатомические изменения характеризовались поражением органов грудной и брюшной полости с признаками ассоциированного течения и наличия секундарных инфекций. Отмечено нарастание титра антител к уровню начала регистрации инфекции в 37 раз, снижением коэффициента вариации в 12 раз.

## **2.3 Повышение эффективности вакцинации против низкопатогенного гриппа птиц (H9N2) в условиях промышленного птицеводства**

### **2.3.1 Оценка иммунного ответа и продуктивности кур на фоне применения вакцин против гриппа птиц (H9N2)**

Результаты исследования показали, что перед вакцинацией в крови птиц трех птичников птиц производственного участка 3 из 12 (25 %) отсутствовали антитела к гриппу птиц. Несмотря на результаты, указывающие на высокую иммуногенность вакцины, включающей штамм Амурский сублинии Y280-like, в условиях племенного репродуктора её применение не обеспечило необходимый уровень иммунного ответа. Титр антител соответствовал положительному значению на уровне 68-78 % и коэффициент вариации от 49,91 % до 72,54 % (табл. 1). Односторонний дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса при сравнении общего уровня антител показал отсутствие статистически значимой разницы ( $p=0,8068$ ). Недостаточный уровень

поствакцинального иммунитета характерен для птиц разных птичников, данная вакцина в условиях этого предприятия со сложившейся эпизоотической ситуацией слабо эффективна.

Таблица 1 – Титры антител к вирусу гриппа птиц производственного участка 3 в крови птицы после вакцинации,  $X \pm s_x$ ,  $n = 25$

Птичник	Уровень антител			Коэффициент вариации
	min	max	med	
Цех 9	1120	5537	2313,64±1598,28	69,08
Цех 10	1041	5856	2115,84±1319,96	62,38
Цех 11	1095	6871	2452,32±1529,98	62,39
Цех 12	1124	6466	2990,64±1697,67	56,77
Цех 13	1120	4900	2446,64±1670,52	72,54
Цех 14	1244	5737	2167,76±1411,74	60,87
Цех 15	1086	7017	2781,16±1524,54	54,82
Цех 16	1002	6212	2365,72±1448,35	61,22
Цех 17	1176	5379	2062,88±1034,67	50,16
Цех 18	1130	4581	2195,88±1096,04	49,91
Цех 19	1106	5415	2243,12±1387,57	61,86
Цех 20	1039	5597	2376,52±1494,29	62,88

Схема иммунизации птиц с применением вакцины, содержащей штамм A/chicken/Syberia/03/2018 (H9N2) линии G1-like, в возрасте 2 и 35 дней с последующей ревакцинацией позволяет сформировать необходимый иммунный ответ у 80 % поголовья птицы и более. Для обеспечения эпизоотического благополучия по низкопатогенному гриппу птиц рекомендуется проведение вакцинации в возрасте 2 и 30-35 суток с последующей ревакцинацией.

### 2.3.2 Оценка способности вакцины против низкопатогенного гриппа птиц создавать трансвариальный иммунитет

Результаты исследования крови птицы в начале периода выращивания показали низкую выявляемость антител к гриппу птиц (табл. 2).

Таблица 2 – Титры антител к вирусу гриппа птиц в крови птицы до вакцинации,  $X \pm s_x$ ,  $n = 25$

Птичник	Уровень антител			Средний уровень антител среди выявленных	Коэффициент вариации
	min	max	med		
ПУ 1 Цех 7	3	139	21,84±42,01	42,0±51,1	725
ПУ 1 Цех 8	3	206	33,08±66,51	63,62±82,81	319,4
ПУ 1 Цех 9	8	160	15,92±42,05	79,60±65,37	147,4
ПУ 2 Цех 7	25	1662	154,68±342,19	351,55±452,6	239,8

Полученные данные могут указывать на так называемые «следы» трансвариального иммунитета, так как цыплята получены от иммунизированной птицы. Напряженность иммунитета среди цыплят сразу после рождения очень низкая, установлена только в одном птичнике из четырех

обследуемых и составила 4 %. В других партиях цыплят она составила 0 %, несмотря на наличие антител в части проб. Сравнительный межгрупповой односторонний дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса при сравнении общего уровня антител показал отсутствие статистически значимой разницы. Это свидетельствует о недостаточной способности вакцины формировать трансовариальный иммунитет.

### 2.3.3 Токсичность и переносимость цыплятами фармакологического комплекса СПАО и препарата Паратерм при сочетанном применении

Сочетанное применение СПАО-комплекса и препарата Паратерм при однократном применении в однократной, пятикратной и десятикратной терапевтической дозе не оказывает выраженного влияния на массу тела цыплят, не обладает летальным действием, что свидетельствует об отсутствии острой токсичности для цыплят-бройлеров. Обнаруженные изменения касаются отдельных биохимических показателей крови, указывающих на компенсаторный характер изменений, не связанных с острым токсическим действием препаратов. Изменения показателей дозозависимы и наиболее ярко выражены при применении в пятикратных и десятикратных терапевтических дозах. Сдвиг биохимических показателей в сторону уменьшения концентрации общего белка, мочевины, кальция, АсАТ, АлАТ в сыворотке крови не носит критического для организма характера и связан с высоким содержанием органических кислот в фармакологическом СПАО-комплексе.

Сочетанное применение СПАО-комплекса и ацетилсалициловой кислоты хорошо переносится цыплятами, даже при пятикратном увеличении дозы препаратов, не приводит к снижению массы тела и среднесуточных приростов. Снижение уровня мочевины и кальция в крови может быть следствием прямого воздействия высоких доз лития и поступления в организм большого количества органических кислот, входящих в состав СПАО-комплекса.

### 2.3.4 Оценка иммунного ответа после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, на фоне антистрессовой терапии

Применение СПАО-комплекса способствовало увеличению сероконверсии (табл. 3).

Таблица 3 – Титры антител к вирусу гриппа птиц в крови птицы до вакцинации,  $X \pm s_x$ ,  $n = 25$

Группы птиц	Уровень антител			Коэффициент вариации, %:
	min	max	med	
До вакцинации				
Контрольная группа	1	14	3,72±5,29	70,35
Первая опытная группа	2	16	3,84±5,37	71,55
Вторая опытная группа	3	15	4,04±4,83	83,56
После вакцинации				
Контрольная группа	1163	6064	2338,44±1661,65	71,06
Первая опытная группа	1009	7203	2737,08±2082,03	76,07
Вторая опытная группа	1013	5778	2287,48±1494,57	65,34

В первой опытной группе средний титр антител на 17,05 % был выше, чем в контрольной, на 19,65 %. Применение СПАО-комплекса в сочетании с ацетилсалициловой кислотой, наоборот, оказало негативный эффект на сероконверсию – во второй опытной группе титр антител был ниже, чем в контрольной на 2,18 %. При сравнении результатов исследования крови птицы контрольной, первой и второй опытных групп, статистически значимой разницы не выявлено ( $p=0,9656$ ). Анализ с помощью U-критерия Манна-Уитни при сравнении отдельно взятой опытной группы с контрольной также продемонстрировал отсутствие статистически значимых различий ( $p=0,8158$  и  $p=0,83856$ ). Это указывает на то, что применение СПАО-комплекса на фоне иммунизации вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, нецелесообразно.

### **2.3.5 Филогенетический анализ изолятов вируса гриппа, выделенных в Челябинской области и вакцинных штаммов, применяемых для профилактики гриппа птиц H9N2**

В связи с невысокой профилактической эффективностью используемой вакцины проведены филогенетические исследования изолятов вируса, циркулирующего на предприятии и сопоставление фрагмента нуклеотидной последовательности его генов с разными вакцинными штаммами, применяемых при производстве вакцин в разных странах. Согласно филогенетическому анализу генов H9 и N2, выделенные изоляты попали в одну G1-подобную линию вместе со всеми ближневосточными и некоторыми азиатскими вирусами. Используя модель географического распространения вируса можно предположить, что занос вируса в Челябинскую область начался из Китая и Ирана, затем на территорию Российской Федерации и в Израиль, анализ путей распространения вируса совпадает как с путями миграции перелетных птиц, так и с географическим расположением поставщиков ремонтных цыплят, частично располагающимися на территории Венгрии и Чехии, где так же циркулирует вирус из Ирана. Наиболее близкой в генетическом отношении и доступной на момент проведения исследований в Российской Федерации оказалась вакцина, содержащая штамм сублинии G1-like, поставляемая в РФ для клинических испытаний. Полученные нами данные подтверждают тот факт, что вакцинные штаммы должны обязательно соответствовать циркулирующим вирусам по гемагглютнину, в то же время получены убедительные доказательства, что для обеспечения эффективности вакцин они должны быть близки и по генам нейраминидазы.

### **2.3.6 Оценка иммунного ответа при применении вакцин против гриппа птиц (H9N2), включающих штаммы A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like и A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like**

Сравнительный анализ показателей иммунного ответа на фоне иммунизации вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, и гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like,

продемонстрировал разный уровень активности специфического звена иммунной системы кур. Вакцина, включающая штамм сублинии G1, показала более высокую однородность вакцинации – 42,16 %. При применении вакцины против гриппа птиц, включающей штамм Y280-like, коэффициент вариации был 54,26-57,95 %, варьировал в пределах 6,81 % (таблица 4).

При этом различия, установленные по результатам одностороннего дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса, были статистически значимы ( $p = 0,0086$ ). Анализ с помощью U-критерия Манна-Уитни при сравнении результатов отдельно взятых групп выявил статистически значимые различия между значениями крови птицы цеха 7 и цехов 5 ( $P=0,0088$ ), 6 ( $P=0,0040$ ) и 8 ( $P=0,0052$ ), что указывает на более выраженный иммунный ответ при применении вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like. Различия между значениями результатов исследования крови птицы цехов 5, 6 и 8 не имели статистических различий. Продуктивность и основные экономические показатели, наблюдаемые в процессе содержания кур родительского стада подтверждают, полученные закономерности (табл. 5 и 6).

Таблица 4 – Титры антител к вирусу гриппа птиц в крови птицы после вакцинации,  $\bar{X} \pm s_x$ ,  $n = 25$

Птичник	Уровень антител			Коэффициент вариации, %
	min	max	med	
ПУ 3 Цех 5*	1022	6453	2651,20±1438,47	54,26
ПУ 3 Цех 6*	1022	6418	2646,92±1534,02	57,95
ПУ 3 Цех 7**	1750	6918	3881,32±1636,46	42,16
ПУ 3 Цех 8*	1104	6084	2698,20±1525,03	56,52

Примечание: \* штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like внииизж; \*\* штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like

Таблица 5 – Показатели содержания кур родительского стада в продуктивный период с 18 по 64 недели жизни

Показатель	Mean, контроль	Mean, опыт	p	Std.Dev. контроль	Std.Dev. опыт
Еженедельная средняя смертность курочек, гол	49,35	31,60	0,0276	39,86	31,48
Еженедельная средняя смертность петушков, гол	4,84	4,64	0,8361	4,43	3,71
Смертность нарастающим итогом, гол	36524,18	39536,95	0,3523	13888,04	15051,69
Снесено яиц, шт. в неделю	52,73	57,96	0,3481	25,40	26,04
Относительная яйценоскость в среднем за продуктивный период, %	93,69	93,96	0,8086	4,77	4,61
Оплодотворяемость яиц, %	82,04	82,02	0,9881	6,38	6,45
Выведено цыплят из яиц, %	82,04	82,02	0,9881	6,38	6,45



Таблица 6 – Показатели содержания кур родительского стада в период максимальной продуктивности с 25 по 36 неделю жизни

Показатель	Mean,	Mean,	P	Std.Dev.	Std.Dev.
	контроль	опыт		контроль	опыт
Еженедельная средняя смертность курочек, гол	81,67	23,67	0,002	52,812	24,832
Еженедельная средняя смертность петушков, гол	5,50	4,20	0,614	6,754	4,341
Смертность нарастающим итогом, гол	357,00	99,75	0,009	302,480	85,659
Снесено яиц, шт. в неделю	50861	54579	0,002	3228	1891
Относительная яйценоскость в среднем за продуктивный период, %	78,93	83,92	0,007	5,010	2,907
Оплодотворяемость яиц, %	96,79	97,02	0,725	1,684	1,393
Выведено цыплят из яиц, %	87,13	87,63	0,761	4,179	3,776
Масса яйца, г	57,31	56,86	0,668	2,677	2,370

Применение вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/UAE/415/99 сублинии G1-like, позволяет вызывать 100 % формирование иммунного ответа, в сравнении с вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, увеличить напряженность иммунитета на 43,85-46,64 %, однородность на 22,29-27,25 %, достоверно повысить абсолютную яйценоскость 6,8 %, относительную – на 4,99 %.

### 2.3.7 Оценка иммунного ответа и продуктивности кур после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like на фоне антистрессовой терапии

После введения вакцины, включающей штамм UAE/415/99 сублинии G1-like, отмечен выраженный поствакцинальный иммунитет и 100 % формирование иммунного ответа (табл. 7).

Таблица 7 – Титры антител к вирусу гриппа птиц в крови птицы,  $X \pm s_x$ , n = 25

Группы птиц	Уровень антител			Средний уровень антител среди выявленных	Коэффициент вариации, %
	min	max	med		
54 дня					
Опытная	7	18	5,04±6,47	11,45±4,44	128,39
Контрольная	4	16	5,48±6,46	11,42±4,12	117,81
70 дней					
Опытная	1362	4392	2455,72±917,95	2455,72±917,95	37,38
Контрольная	1359	3529	1988,40±687,13	1988,40±687,13	34,56
104 дня					
Опытная	2195	7182	3837,80±1481,83	3837,80±1481,83	38,61
Контрольная	1374	5911	3178,52±1452,95	3178,52±1452,95	45,71
119 дней					
Опытная	3643	8139	5343,80±1669,43	5343,80±1669,43	31,24
Контрольная	2018	7999	4400,40±1487,14	4400,40±1487,14	33,80
173 дня					
Опытная	2630	7139	5168,48±1158,27	5168,48±1158,27	22,41
Контрольная	1298	6707	3408,84±1316,97	3408,84±1316,97	38,63

Данные таблицы 7 свидетельствуют о высокой эффективности проведенной вакцинации птицы против гриппа. На протяжении 65 дней после вакцинации отмечалось стабильное нарастание данного показателя. При этом в опытной группе в сравнении с контрольной группой кур это было выражено сильнее: на 14 % в возрасте 70 дней, 43 % – в возрасте 104 дней, 31 % – в возрасте 119 дней. При этом разница между значениями уровня антител на протяжении наблюдений сохраняла тенденцию и почти всегда была статистически значима  $p = 0,0370$  (70 дней),  $p = 0,0823$  (104 дня),  $p = 0,0335$  (119 дней),  $p = 0,00002$  (173 дня).

Признаком успешной вакцинации является соотношение анализируемых параметров – среднего титра антител и коэффициента вариации, выражаемого через индекс вакцинации, который на фоне применения разработанного способа был на 14,17-161,38 % выше, чем при базовой технологии выращивания птицы.

Применение СПАО-комплекса в сравнении с базовой технологий производства инкубационного яйца способствует увеличению ряда производственных показателей. Смертность курочек контрольной группы была достоверно выше, чем в опытной на 37 %. Вместе с тем наблюдается достоверное снижение уровня выбраковки курочек опытной группы – в 1,35 раза. Выбраковка с нарастающим итогом в опытной группе составила 3,42 %, в контрольной группе 4,16 % (табл. 8).

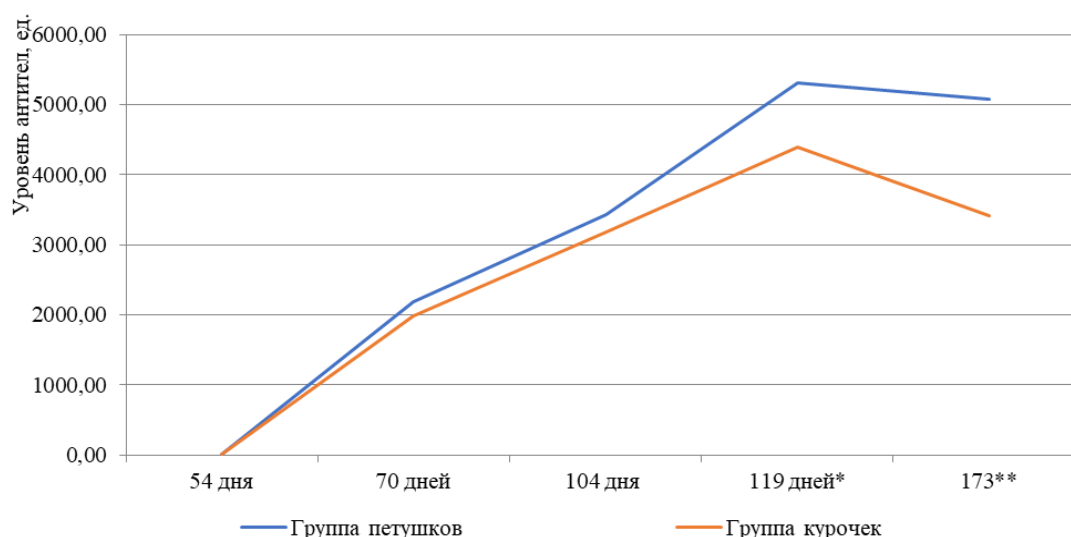
Таблица 8 – Продуктивность опытных кур за период с 23 по 41 неделю жизни

Показатель	Mean, контроль	Mean, опыт	P	Std.Dev. контроль	Std.Dev. опыт
Средняя смертность курочек, гол	16,5	26,1	9,1	16,6	0,0023
Средняя выбраковка курочек, гол в неделю	46,5	62,6	19,1	30,8	0,0695
Относительная смертность курочек в неделю, %	0,176	0,279	0,103	0,193	0,0036
Снесено яиц в среднем в неделю, штук	46215	45928	18349	18546	0,9457
Относительная яйценоскость на начальную несушку, %	69,5	68,5	27,6	27,6	0,8717
Инкубационных яиц на начальную несушку, штук	43,4	44,5	25,6	25,6	0,8901
Инкубационных яиц на начальную несушку, %	74,8	74,9	9,8	5,6	0,9930
Оплодотворяемость яиц в среднем, %	92,3	90,9	4,7	5,1	0,3099
Средний вывод цыплят из яиц, %	83,2	81,9	8,4	8,1	0,7399

Эффективность иммунного ответа в результате проведенной вакцинации на фоне применения разработанного способа был на 5,59-161,38 % выше, чем при базовой технологии выращивания птицы.

### **2.3.8 Оценка иммунного ответа после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like, в зависимости от половой принадлежности птиц**

Отдельным вопросом, является более высокая устойчивость петухов к низкопатогенному гриппу птиц.



Примечание: \* -  $p = 0,0250$ ; \*\* -  $p = 0,0001$

Рисунок 1 – Динамика титров антител в крови птицы разного пола после вакцинации

До вакцинации уровень антител в крови птицы разного пола был минимальный, величина коэффициента вариации свидетельствовала об отсутствии однородности полученных данных. После введения вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм UAE/415/99 сублинии G1-like, отмечен выраженный поствакцинальный иммунитет, отмечено 100 % формирование иммунного ответа и нарастание уровня антител до 119-дневного возраста (рисунок 1) как в организме курочек, так и в организме петушков.

При применении вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like, отмечается формирование иммунного ответа, выраженного в большей степени у петушков, чем у курочек: по напряженности иммунитета – на 7,79-49,04 % (разница была статистически значимой в возрасте 119 и 173 дней), по однородности – на 3,07-33,16 %.

### 2.3.9 Экономическая эффективность результатов исследований

Предприятию в результате вспышки низкопатогенного гриппа в расчете на одну стандартную партию птицы – 45000 голов был нанесен экономический ущерб на сумму 29740,13 тыс. руб.

Экономический эффект, полученный в результате иммунизации птицы вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/chicken/UAE/415/99 сублинии G1-like, в сравнении с иммунизацией A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, устанавливаемый по разнице между дополнительной стоимостью и ветеринарными затратами, был положительным и составил 5010446,38 руб., экономическая эффективность мероприятий на один рубль затрат – 8,08 руб.

Экономический эффект, полученный в результате иммунизации птицы вакциной против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like, в сочетании с Астравитом и СПАО-комплексом был положительным и составил 248088,26 и 2369771,55 руб. соответственно, экономическая эффективность мероприятий на один рубль затрат – 2,9 и 7,83 руб.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Массовое клиническое проявление и эпизоотия могут нанести значительный экономический ущерб и иметь серьезные последствия для птицеводческой отрасли. Многие страны, осознавая важность эффективных мер предотвращения и контроля гриппа птиц, применяют вакцинацию в качестве ведущего звена в системе мер по предотвращению заболевания 153 гриппом H9N2 у домашней птицы. При этом выбор и применение вакцин должны осуществляться с учетом особенностей конкретного штамма и сценария заболевания, а также в соответствии с регулирующими и национальными стандартами. Исходя из этого были сделаны следующие выводы:

1. На промышленных птицеводческих предприятиях Челябинской области в период с 2017 года по настоящее время регистрируются очаги низкопатогенного гриппа птиц с преимущественным выделением штамма H9N2 сублиний G1 и Y280.

2. Вспышка гриппа птиц среди родительского стада кур, зарегистрированная в условиях юга Челябинской области в период с 2017 по 2019 гг. характеризуется нарастанием титра антител к уровню начала регистрации инфекции в 37 раз, снижением коэффициента вариации в 12 раз. Клинические проявления включают непродолжительный отказ от корма в продромальный период, скученность, взъерошенное оперение, снижение продуктивности, яйценоскости; комплекс респираторных симптомов: чихание, хрипы, слезотечение, ларингит, трахеит, образование казеозных пробок в нижней части трахеи, удушье птицы, статистически выраженное снижение массы яиц и их деформация. Патологоанатомические изменения характеризуются поражением органов грудной и брюшной полости с признаками ассоциированного течения и наличия секундарных инфекций в виде гидроперикардита, спленита, полосчатых кровоизлияний на слизистой оболочке железистого желудка, катарально-геморрагического энтероколита, кровоизлияний в илиоцекальных железах, сальпингита, желточного перитонита. Экономический ущерб в расчете на одну стандартную партию 45000 голов взрослой птицы родительского стада составляют в среднем 29740130 руб.

3. Применение вакцины, включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, в условиях племенного репродуктора, расположенного на юге Челябинской области, не обеспечило необходимый уровень иммунного ответа - титр антител соответствовал положительному значению на уровне 68-78 % и коэффициент вариации от 49,91 % до 72,54 %. Иммунизации птиц в возрасте 2 и 35 дней с последующей ревакцинацией с применением вакцины, содержащей штамм A/chicken/Syberia/03/2018 (H9N2) линии G1-like, позволила сформировать необходимый иммунный ответ у более чем 80 % поголовья птицы.

4. Обнаруженный низкий уровень формирования трансовариального иммунитета в 25 % исследуемых проб указывает на необходимость обязательной вакцинации ремонтных цыплят.

5. Сочетанное применение СПАО-комплекс и ацетилсалициловой

кислоты не приводит к повышению токсичности и хорошо переносится цыплятами даже при применении в пятикратных и десятикратных дозах. Применение высоких доз СПАО-комплекс и препарата Паратерм не приводит к снижению массы тела и среднесуточных приростов. Обнаруженные изменения касаются отдельных биохимических показателей крови, указывающих на компенсаторный характер изменений, не связанных с острым токсическим действием препаратов. Снижение уровня мочевины и кальция в крови на 28,3% и 13,6 % при применении фармакологических средств в пятикратных терапевтических дозах может быть следствием поступления в организм большого количества органических кислот, входящих в состав СПАО-комплекс на фоне высоких доз ацетилсалициловой кислоты.

6. Разработанная схема профилактики вакцинальных стрессов, включающая применение фармакологических средств СПАО-комплекс и Паратерм позволила повысить среднее значение титров антител на 20,25 % и индекс вакцинации на 9,32 %, однако, это не оказало существенного влияния на повышение эффективности иммунизации вакциной, включающей штамм A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like.

7. Филогенетический анализа изолятов вируса показал, что на предприятии циркулируют варианты H9N2 A/chicken/Russia/D5167-1-2/2020 и A/chicken/Russia/D5167-2-3/2020, они представляют одну G1-подобную линию вместе со всеми ближневосточными и некоторыми азиатскими вирусами. В связи с обнаруженным генетическим несоответствием эффективность вакцинации, препаратом, содержащим штамм сублинии Y280-like, была недостаточной для обеспечения высокой защиты поголовья от циркулирующего на предприятии вируса.

8. При использовании вакцины, включающей вариант штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like, в сравнении со штаммом A/chicken/Amursky/03/12/H9N2 сублинии Y280-like, напряженность иммунитета у птиц увеличивается в среднем на 45,2 %, однородность титров антител – на 24,8 %, достоверно снизилась смертность кур родительского стада на 64,0 %, увеличилась яйценоскость на 5,23 %, в период пика абсолютная яйценоскость повышается на 6,8 %.

9. При иммунизации вакциной, содержащей штамм A/ chicken /UAE/415/99 сублинии G1-like, разработанная схема профилактики стрессов повышает эффективность вакцинации. Применение витаминно-аминокислотного комплекса Астравит способствует усилению выработки антител на 51,67-51,62 %, усиливает однородность иммунитета на 7,5-41,99 %. Эффективность иммунного ответа в результате проведенной вакцинации на фоне применения СПАО-комплекс выше в среднем на 83,49 %, чем при применении Астравита, выбраковка курочек снижается в 3 раза до уровня 0,178 %. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на каждые 100000 голов составила 2,9 руб. на 1 рубль затрат при применении Астравита и 7,83 руб. при использовании СПАО-комплекса.

10. При применении вакцины против гриппа птиц (H9N2), включающей штамм UAE/415/99 сублинии G1-like у петушков формирование иммунного

ответа было выражено в большей степени, чем у курочек. Напряженность иммунитета выше на 7,79-49,04 % и выше однородности титров антител на 3,07-33,16 %.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. На предприятиях промышленного типа при наличии клинической картины и патологоанатомических изменений характерных для низкопатогенного гриппа птиц необходима лабораторная диагностика возбудителя серологическими методами в РТГА или РДП и ИФА согласно плану мониторинга ветеринарной безопасности (Приказ Минсельхоза России от 22 января 2016 г. № 22 «Об утверждении Правил осуществления мониторинга ветеринарной безопасности территории Российской Федерации»). При диагностировании варианта вируса H9N2 необходимо провести комплекс мероприятий, направленных на ликвидацию возбудителя, включающий обязательную вакцинацию. Выбор вакцины необходимо проводить согласно филогенетическому анализу изолятов возбудителя, вакцина должна включать подтип циркулирующего вируса и содержать варианты вируса наиболее близкие в генетическом отношении к циркулирующим вариантам. Использование вакцин с низкой степенью гомологии по отношению к циркулирующему вирусу может привести к клиническому заболеванию и усилить экскрецию вируса во внешнюю среду у вакцинированного поголовья при заражении, что дополнительно провоцирует появление новых вариантов вируса.

2. Для повышения эффективности вакцинации необходимо профилактировать развивающиеся в процессе вакцинации стрессы. Предлагаем применение через систему медикаторов фармакологического средства СПАО-комплекс дозе 185 мг/кг массы тела за три дня до вакцинации, в день вакцинации и в течение одного дня после её проведения.

3. Для оптимизации диагностики и разработки системы профилактических мероприятий и ликвидации низкопатогенного гриппа птиц разработан и утвержден «Регламент по диагностике, профилактике и ликвидации низкопатогенного гриппа птиц (H9N2) в условиях промышленных птицеводческих предприятия», который включает перечень подробных методических рекомендаций и план оздоровления.

4. Разработчикам вакцин для повышения их эффективности рекомендуем включать все штаммы H9N2, циркулирующие на территории Российской Федерации, включая варианты вируса G1, Y280, Y439. Выбор вирусного штамма, который будет включен в состав вакцин для птиц, должен осуществляться на основе сравнительного анализа циркулирующих полевых штаммов.

### **РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Перспективным направлением в решении проблемы распространения низкопатогенного гриппа птиц является дальнейшее совершенствование иммунобиологических препаратов и других методов профилактики вирусных

инфекционных заболеваний, в том числе повышение иммунологической резистентности организма птиц путем научно-обоснованного подбора вакцин и антистрессовых фармакологических средств в условиях промышленного птицеводства. Дальнейшая разработка начатых исследований будет ориентирована на оптимизацию схем вакцинопрофилактики низкопатогенного гриппа птиц с целью ликвидации заболевания и предупреждения распространения высокопатогенного гриппа птиц.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Статьи, опубликованные в журналах, рекомендуемых ВАК**

#### **Минобразования РФ для публикации основных результатов диссертации**

1. Баннов, Д. В. Сравнительное изучение формирования иммунного ответа, вызываемого вакцинами против гриппа птиц (H9) кур, включающими разные штаммы / Д. В. Баннов, Н. А. Журавель, А. В. Мифтахутдинов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 256, № 4. – С. 9-15.

2. Журавель, Н. А. Мониторинг эпизоотической ситуации по гриппу птиц в условиях разных площадок предприятия по производству инкубационного яйца в Челябинской области / Н. А. Журавель, А. В. Мифтахутдинов, Д. В. Баннов // АПК России. – 2022. – Т. 29, № 3. – С. 355-359. – DOI 10.55934/2587-8824-2022-29-3-355-359.

3. Баннов, Д.В. Токсичность и переносимость цыплятами фармакологического комплекса СПАО и препарата Паратерм при сочетанном применении / Д.В. Баннов // АПК России. – 2024. – Т. 31 – № 3. – С. 393-399.

### **Патенты**

4. Патент № 2785659 С1 Российская Федерация, МПК А23К 20/00, А61Р 3/00. Способ повышения эффективности промышленного выращивания цыплят-бройлеров: № 2021118174: заявл. 21.06.2021: опубл. 12.12.2022 / А. В. Мифтахутдинов, Э. Р. Сайфульмулюков, Д.В. Баннов [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный аграрный университет».

5. Патент № 2805265 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/00. Способ повышения эффективности вакцинации птиц против вируса гриппа: № 2022135182: заявл. 29.12.2022: опубл. 13.10.2023 / А.В. Мифтахутдинов, Е.А. Мифтахутдинова, Д.В. Баннов [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный аграрный университет».

### **Статьи, опубликованные в сборниках конференций**

6. Баннов, Д.В. Оценка иммунного ответа после применения вакцины против гриппа птиц (H9N2) на фоне антистрессовой терапии / Д.В. Баннов // Современные проблемы аграрной науки и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции имени Заслуженного

деятеля науки КБР, почетного работника виноградарской и винодельческой отраслей Ставропольского края, академика МАНЭБ, д. с-х. н., профессора М.Н. Фисуна, Нальчик, 09 ноября 2023 года. – Нальчик: Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, 2023. – С. 351-353.

7. Баннов, Д.В. Оценка иммунного ответа при специфической профилактике низкопатогенного гриппа птиц / Д.В. Баннов // Теория и практика современной аграрной науки: Сборник VII национальной (всероссийской) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 26 февраля 2024 года. – Новосибирск: ИЦ НГАУ "Золотой колос", 2024. – С. 631-634.

8. Баннов, Д.В. Анализ патологоанатомических изменений у птицы при вспышке низкопатогенного гриппа / Д.В. Баннов // Актуальные вопросы зоотехнических и ветеринарных наук: теория и практика: Материалы Национальной (Всероссийской) научной конференции Института ветеринарной медицины, Троицк, 28–29 ноября 2023 года. – Челябинск: Южно-Уральский государственный аграрный университет, 2023. – С. 12-20.

9. Баннов, Д.В. Экономическая оценка ветеринарных мероприятий при низкопатогенном гриппе птиц в промышленном птицеводстве / Д.В. Баннов // Инновационные решения актуальных вопросов биологической и токсикологической безопасности: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Казань, 23–24 ноября 2023 года. – Казань, 2023. – С. 239-243.

### **Монография**

10. Потенцирование иммунного ответа к вирусным болезням птиц на фоне развития вакцинальных стрессов: монография / А.В. Мифтахутдинов, Н.А. Журавель, Д.В. Баннов, Е.А. Ноговицина, Э.Р. Сайфульмулюков, В.В. Журавель, Е.А. Мифтахутдинова – Троицк: ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ, 2022. –115 с.