

Д/р  
7488

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені І.І.МЕЧНИКОВА

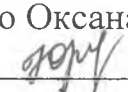
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

Напрямок підготовки/спеціальність Вірусологія (8.04010203)  
Освітньо-кваліфікаційний рівень Магістр

Кваліфікаційна робота на здобуття ОКР „Магістр”

ПОСТВАКЦИНАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ ДО ХВОРОБИ НЬЮКАСЛА  
У МИШЕЙ

Студентки  
денної форми навчання  
(нормативний термін навчання 1 рік)  
ТРЕГУБ Наталії Сергіївни

Науковий керівник  
к.б.н., доцент  
Зінченко Оксана Юріївна  
  
(підпис керівника)

Рецензент  
к.б.н., доцент кафедри зоології  
Кириленко Наталія Анатоліївна

Рекомендовано до захисту:  
протокол засідання кафедри  
№ 11 від «13» 05 2013 р.  
Завідувач кафедри

  
(підпис) Іваниця В.О.  
(прізвище, ініціали)

Захищено на засіданні ДЕК № 1  
протокол № 41 від «26» 06 2013 р.  
Оцінка Відп. 91, А  
(за 4-х та за 100 бальною шкалою)

Голова ДЕК  Гашченко Б.М.  
(підпис) (прізвище, ініціали)

ОДЕСА – 2013

645347

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена вивченню впливу пробіотичного препарату «Мультибактерин».

Робота виконана на базі вірусологічної лабораторії Українського науково-дослідного протичумного інституту імені І.І. Мечникова. У ході роботи проведено зараження курячих ембріонів вакцинним штамом Ла-Сота та виготовлено суху вакцину. Встановлено, що після висушування активність вірусу в вакцині знижувалася вдвічі у порівнянні з інтактною алантоїсною рідиною. Показано, що на фоні прийому пробіотика «Мультибактерин» середня вага мишей у дослідній групі протягом періоду дослідження перевищувала цей показник для контролю. Середній титр специфічних антитіл до збудника хвороби Ньюкасла у контрольній групі в 2 рази перевищував середній титр в дослідній групі. Груповий імунітет на фоні пробіотика складав 100 %, в той час, як в дослідній групі – 20 %.

Робота викладена на 38 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 2 рисунками та 6 таблицями. Список використаної літератури включає 40 джерел, серед яких 30 кирилицею та 10 латиницею.

## ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон

РГА – реакція гемаглютинації

РГГА – реакція гальмування гемаглютинації

$\lg \text{EID}_{50}/\text{мл}$  – інфекційна активність вакцинного вірусу

## ЗМІСТ

|                                                                                                                  | Стор. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ВСТУП.....                                                                                                       | 5     |
| 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....                                                                                         | 7     |
| 1.1. Історія вивчення хвороби Ньюкасла. Загальні відомості.....                                                  | 7     |
| 1.2. Характеристика збудника Ньюкаслської хвороби.....                                                           | 9     |
| 1.3. Шляхи передачі збудника та патогенез Ньюкаслської хвороби.....                                              | 13    |
| 1.4. Характеристика специфічного імунітету.....                                                                  | 16    |
| 1.5. Вакцинація проти хвороби Ньюкасла.....                                                                      | 17    |
| 1.6. Пробіотичні препарати в тваринництві та птахівництві.....                                                   | 20    |
| 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....                                                                          | 24    |
| 2.1. Виготовлення вакцини Ла-Сота.....                                                                           | 24    |
| 2.2. Визначення впливу пробіотика «Мультибактерин» на формування специфічного імунітету до хвороби Ньюкасла..... | 27    |
| 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....                                                                  | 30    |
| УЗАГАЛЬНЕННЯ.....                                                                                                | 34    |
| ВИСНОВКИ.....                                                                                                    | 35    |
| ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....                                                                                         | 36    |
| ДОДАТОК.....                                                                                                     | 39    |

## ВСТУП

Ньюкаслська хвороба (псевдочума, азіатська чума курей, хвороба Філарет, хвороба Ранікхет) – *Newcastle disease (Pseudopestis avium, Avian pneumoencephalitis)* – це особливо небезпечне висококонтагіозне вірусне захворювання птахів родини курячих. У наш час актуальним питанням залишається захист свійських птахів від збудника хвороби Ньюкасла. Хвороба Ньюкасла поширена по всьому світу. До цієї хвороби сприйнятливі птахи різного віку (летальність становить 60-90%). Збудник хвороби Ньюкасла швидко розповсюджується в повітрі; з яйцями; фекаліями. Швидко зростає кількість інфікованих птахів. Цілі господарства гинуть. Таким чином хвороба Ньюкасла викликає значні економічні та екологічні збитки як у промисловому птахівництві, так і у малих господарствах.

Хвороба Ньюкасла є небезпечним захворюванням і на основі закону про охорону здоров'я номер 166/1999 Sb підлягає обов'язковому оповіщенню Європейської комісії по країнам ЄС.

На сьогоднішній день актуальною залишається розробка ефективних методів імунізації птахів проти хвороби Ньюкасла. Наявна вакцина Ла-Сота – єдиний наразі засіб специфічної профілактики захворювання – не завжди дозволяє досягти необхідного рівня антитіл в крові птахів. У зв'язку з цим підвищення специфічного імунітету до псевдочуми курей є актуальною задачею. Зважаючи на те, що в лабораторних умовах утримання великих птахів є проблематичним, попередні дослідження впливу різноманітних факторів на формування специфічного імунітету до хвороби Ньюкасла проводять на модельних організмах, зокрема, – білих мишах.

**Метою** даної роботи було визначення впливу пробіотики «Мультибактерин» на формування у білих мишей поствакцинального імунітету до хвороби Ньюкасла.

У відповідності до мети дослідження були сформульовані наступні завдання:

1. Провести зараження курячих ембріонів штамом Ла-Сота вірусу Ньюкааської хвороби курей та отримати алантоїсну рідину для виготовлення вакцини.

2. Визначити титри інтактної алантоїсної рідини та готової вакцини в реакції гемаглютинації.

3. Встановити вплив пробіотичного препарату «Мультибактерин» на приріст ваги білих мишей.

4. Визначити ефективність імунізації мишей вакциною Ла-Сота на фоні прийому пробіотика та без нього.

*Об'єкт дослідження* – специфічний імунітет до хвороби Ньюкасла.

*Предмет дослідження* – вплив пробіотичних препаратів на формування поствакцинального імунітету до хвороби Ньюкасла у мишей.

## УЗАГАЛЬНЕННЯ

Останнім часом у країні спостерігаються непоодинокі випадки захворювання птиці на хворобу Ньюкасла, що призводить до ураження нервової системи, респіраторних органів, геморагічного запалення шлунково-кишкового тракту. Чутливі до неї кури, індики, цесарки, перепели, фазани. Описано випадки захворювання на неї й гусей, качок, голубів, горобців, іншої птиці [10].

На даний момент єдиним методом боротьби з цією хворобою є її попередження шляхом вакцинації, що дасть змогу запобігти величезним економічним збиткам [39].

Нами досліджено формування поствакцинального імунітету у модельних організмів – білих мишей – на фоні прийому пробіотики «Мультибактерин», що наразі широко використовується у тваринництві.

На першому етапі роботи проведено виготовлення сухої вакцини. Установлено, що при висушуванні титр вірусу знижується вдвічі у порівнянні з інтактною алантоїсною рідиною.

На 5 добу випоювання пробіотики «Мультибактерин» в дослідній групі середня вага на 0,3 г перевищувала цей показник для контролю; на 10 добу – на 1,6 г; на 15 добу – на 1,9 г. Середньодобовий приріст ваги в дослідній групі перевищував цей показник як до імунізації, так і після неї.

Середній титр специфічних антитіл до збудника хвороби Ньюкасла у контрольній групі в 2 рази перевищував середній титр в дослідній групі.

Показано також, що груповий імунітет в дослідній групі складав 100 %, тоді, як в контрольній – 20 %.

Таким чином, нами встановлено значне підвищення ефективності імунізації білих мишей вакциною Ла-Сота на фоні випоювання пробіотики «Мультибактерин».

## ВИСНОВКИ

1. Проведено зараження курячих ембріонів вакцинним штамом Ла-Сота та виготовлено суху вакцину. Встановлено, що після висушування активність вірусу в вакцині знижувалася вдвічі у порівнянні з інтактною алантоїсною рідиною.
2. На фоні прийому пробіотика «Мультибактерин» середня вага мишей у дослідній групі на 5 добу досліду на 0,3 г перевищувала цей показник для контролю; на 10 добу – на 1,6 г; на 15 добу – на 1,9 г.
3. Середній титр специфічних антитіл до збудника хвороби Ньюкасла у контрольній групі в 2 рази перевищував середній титр в дослідній групі.
4. Груповий імунітет на фоні пробіотика складав 100 %, в той час, як в дослідній групі – 20 %.

## СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонов В. Я. Лабораторные исследования в ветеринарии. – М.: Колос, 1971. – 648 с.
2. Багдасарьян Г. А. Основы санитарной вирусологии. – М. – Медицина. – 1977. - 200 с.
3. Бойд У. К. Основы иммунологии / Пер. с англ. Ф. Герхардт – М.: 1969. – 648 с.
4. Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології: Підручник. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.
5. Вирусология / Под ред. Филдса и Найпа. – М.: Мир, 1989. – Т. 1. – С. 156-274.
6. Вирусология. Методы / под ред. Б. Мейхи. – М.: Мир. – 1988. – 344 с.
7. Вирусология / Под ред. Б. Филдса и Д. Найпа. – М.: Мир, 1989. – Т. 2. – С. 56-126, 254-310.
8. Вирусология / под ред. Б. Филдса и Д. Найпа. – М.: Мир. - 1989. - Т. 3. - С. 96-178, 210-279, 300-318.
9. Воробьева А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2004.- 236 с.
10. Герман В.В., Головкин А.Н. Изучение патогенности изолятов вируса ньюкаслской болезни // Птахівництво: Міжвід. тематич. наук. зб. – 2005. – Вип. 57. – С. 398–401.
11. Голубев Д. Б., Соминина А. А., Медведева М. Н. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии. – Л.: Медицина, 1976. – 224 с.
12. Гусев М. В., Минеева Л. А. Микробиология. — М.: Изд-во МГУ, 1985. - 375 с.
13. Емцев В. Т. Микробиология. – М.: Мир, 1987. – 576 с.
14. Иммунология: Практикум / Е. У. Пастер, В. В. Овод, В. К. Позур, Н. Е. Вихоть. – К.: Выща шк. Изд-во при Киев. ун-те, 1989. – С. 30-56.

15. *Кочемасова З. Н.* Санитарная микробиология и вирусология. - М.: Медицина, 1987. - С. 64-117.
16. *Мейхи Б. С.* Вирусология. Методы. - М.: Мир, 1988. - 344 с.
17. *Посібник з медичної вірусології / за ред. акад. В.М. Гіріна.* - Київ. - Здоров'я. - 1995. - 367 с.
18. *Сергеев В. А.* Вирусные вакцины. - К.: Урожай, 1993. - 367 с.
19. *Сергеев В. А.* Репродукция и выращивание вирусов животных. - М.: Колос, 1976. - 303 с.
20. *Сморodinцев А.А.* Иммунологические. Диагностика Вирусных. Инфекций. - М.: Медицина, 1985. - 41 с.
21. *Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под. Ред. М. О. Биргера.* - М.: Медицина, 1973. - 464 с.
22. *Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера.* - М.: Медицина, 1982. - С. 399-406.
23. *Сюрин В. Н.* Псевдочума птиц (ньюкаслская болезнь). - М.: Сельхозиздат, 1963. - 304 с.
24. *Сюрин В. Н.* Руководство по ветеринарной вирусологии. - М.: Колос, 1965. - 687 с.
25. *Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В.* Вирусные болезни животных. - М.: ВНИИТиБП, 1998. - 928 с.
26. *Розанов Н.Н.* Микробиологическая диагностика заболеваний сельскохозяйственных животных. - М.: ГИСЛ, 1952. - 578 с.
27. *Феннер Ф., Мак-Ослен Б., Мимс С., Сэмбрук Дж., Уайт Д.* Биология вирусов животных. - М.: Мир, 1977. - Т. 1. - 447 с.
28. *Шлегель Г.* Общая микробиология. - М.: Мир, 1987. - 576 с.
29. *Вереvка С.В.* Прионы и вирусы: структурные аналогии и их следствия. I. Протеиназо-транспортная гипотеза // Укр. биохим. журн. - 1999. - Т. 71, № 5. - С. 135-139.
30. *Зандарян С.Ю.* Определение индекса интрацеребральной патогенности изолятов вируса ньюкаслской болезни на перепелятах // Ветеринарна

- медицина: Міжвід. тематич. наук. зб. – 2005. – Вип. 85. – С. 457–462.
31. *Alexander D.J.* Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections. Diseases of Poultry. - Boston: Ames, Iowa, 1997. – P. 541-570.
  32. *Beach, J.R.* Identification of animal diseases.- Boston: Ames, 1998. – P. 203-223.
  33. *Beard, C.W., Hanson R.P.* Newcastle disease. In: Diseases of Poultry (eds. M.S. Hofstadt et al.), 8-th Ed., Iowa State Univ. Press, Ames, USA. - P. 452-470.
  34. *Kaleta E.F., Baldaus C.* Newcastle disease in free-living and pet birds. In: Newcastle disease (ed. D.J. Alexander), Kluwer Acad. Publ., Boston. – P. 197-246.
  35. *Kraneveld, F.C.* Animals diseases // Ned. Indisch. Bl. Diergeneeskde.– V. 10. – P. 448-450.
  36. *Beaudette F.R., Black J.J.* Virology aspects of Newcastle disease // Proc. Annu. Meet. US Livest. Sanit. Assoc. – V. 42. – P. 49-53.
  37. *Ghuman J.S., Bancovski R.A.* In vitro DNA synthesis in lymphocytes from turkey vaccinated with LaSota, TC and inactivated Newcastle disease vaccines // Avian Dis, 1975. – V. 20. – P. 18-31.
  38. *Hanson R.P.* Newcastle disease. Isolation and Identification of Avian Pathogens // Amer Ass Avian Pathologists. Kennett Square. – 1980. – V. 63. – P. 66.
  39. *Lancaster J.E.* Newcastle disease // Virus Disease of Food Animals. – 1981. – V. 11. – P. 433-465.
  40. *Ordus S. D.* Proteins model tape streins of *Paramyxoviridae* // Env. Virolody. – 2007.– V. 123. – P. 125-129.

305.2013

*JK*