

**МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

06.07. – МР. 1998 «С». 2023.11.1. 18 ПЗ

**ШЕВЧЕНКО АНАСТАСІЯ ВІКТОРІВНА**

2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 606:636.5.09

**ПОГОДЖЕНО**

Декан факультету

захисту рослин, біотехнологій та екології

\_\_\_\_\_ Коломієць Ю.В.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**

Завідувач кафедри

екобіотехнології та біорізноманіття

\_\_\_\_\_ Кваско О.Ю.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

**МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА**

на тему «Оптимізація біотехнології виробництва вакцин для птахівництва»

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»  
(код і назва)

Освітня програма «Біотехнологія та біоінженерія»  
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна  
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

**Керівник бакалаврської роботи**

Д. С.-Г. наук., доцент  
(науковий ступінь та вчене звання)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Бородай В. В.

\_\_\_\_\_ (ПІБ)

**Виконав**

\_\_\_\_\_ (підпис)

Шевченко А. В.

\_\_\_\_\_ (ПІБ студента)

КИЇВ-2024

# Національний університет біоресурсів і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології  
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття  
Освітній ступінь «Магістр»  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри

“ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2024 р.

## **З А В Д А Н Н Я** **НА ВИПУСКНУ** **МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

Шевченко Анастасії Вікторівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Оптимізація біотехнології виробництва вакцин для птахівництва»

керівник роботи д.с.-г.н., доцент Бородай Віра Віталіївна,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи 10 листопада 2024 року

3. Вихідні дані до роботи біотехнологія отримання вакцин, антигени, гемаглютинуюча активність, вірус.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

4.1. Оптимізувати біотехнологію отримання вакцин

4.2. Визначити вплив стабілізаторів на гемаглютинуючі властивості ліофілізованого вірусу хвороби Ньюкасла за різних температур

4.3. Дослідити вплив розчинника на відновлення гемаглютинуючих властивостей ліофілізованого вірусу хвороби Ньюкасла

4.4. Вивчити вплив співвідношення вірусного матеріалу та стабілізаторів на гемаглютинуючі та імуногенні властивості ліофілізованого вірусу хвороби Ньюкасла

## 5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		
2	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		
3	д.с.-г.н., доцент Бородай В.В.		

6. Дата видачі завдання 20 вересня 2023 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Огляд літературних джерел згідно обраної тематики	Грудень 2023 р.	
2	Розділ 2. Матеріали та методи проведення дослідження	Жовтень 2023 р.	
3	Розділ 3. Оформлення результатів експериментальної роботи	Травень – жовтень 2024 р.	
4	Висновки, вступ, оформлення списку літратури	Жовтень 2024 р.	

Студент

\_\_\_\_\_

( підпис )

**Шевченко А.В.**

(прізвище та ініціали)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_

**Бородай В.В.**

## Реферат

Робота виконана на 55 сторінках, містить 3 розділи, 14 рисунків, 6 таблиць, 54 використаних джерела, 3 додатки.

Метою даної роботи є дослідження впливу стабілізаторів на гемаглютинуючі властивості ліофілизованого вірусу хвороби Ньюкасла за різних температур, вплив розчинника на відновлення гемаглютинуючих властивостей ліофілизованого вірусу хвороби Ньюкасла та вплив співвідношення вірусного матеріалу та стабілізаторів на гемаглютинуючі та імуногенні властивості ліофілизованого вірусу хвороби Ньюкасла. За результатами проведеного дослідження, оптимізовано біотехнологію отримання вакцин, а саме: манітол у якості стабілізатору при співвідношенні до вірусного матеріалу 40:60 та при використанні у якості розчинника фосфатно-сольового буферу, забезпечують найкраще збереження активності вірусного матеріалу, його відновлення та імунну відповідь цільових тварин.

**Предмет досліджень:** вірусомісний матеріал хвороби Ньюкасла штамів *Hitcher B1* та *LaSota*, суспензія еритроцитів, сироватка крові вакцинованих курей.

**Методи досліджень:** мікробіологічні, біохімічні, інструментальні, статистичні.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Опис та характеристика вакцин.....	10
1.2. Ринок вакцин для птахівництва в Україні та світі.....	17
1.3. Характеристика родини вірусів Paramixoviridae .....	19
1.4. Стабілізація живих вакцин.....	22
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ..	25
2.1 . Характеристика об'єктів дослідження.....	25
2.2. Речовини, що використовуються для стабілізації вірусу при виробництві живих атенуйованих вакцин.....	28
2.3. Підготовка розчинників для живих ліофілізованих вакцин.....	30
2.4. Методика дослідження активності вірусу та імуногенності.....	31
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ РОБОТИ .....	37
3.1. Вплив речовини-стабілізатору на збереження гемаглютинуючих властивостей вірусу в ліофілізованих живих вакцинах .....	37
3.2. Вплив розчинника на відновлення живих ліофілізованих вакцин	40
3.3. Вплив співвідношення стабілізатора та вірусомісного матеріалу в ліофілізованих живих вакцинах на властивості препарату .....	42
ВИСНОВКИ.....	48
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	49

## ВСТУП

Птахівництво є найбільшим джерелом м'яса в усьому світі, що призводить до стрімкого зростання галузі. Галузь птахівництва є однією з найбільш розвинених галузей тваринництва. Свійська птиця є найбільш продуктивною худобою у світі, згідно зі статистичними даними Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН, середнє поголів'я курей у світі становить майже 19 мільярдів. Також, у зв'язку з високим рівнем споживання продукції птахівництва, очікується зростання виробництва птиці. З 2001 по 2021 рік світовий імпорт птиці збільшувався в середньому на 4 відсотки на рік, досягнувши 14,2 мільйона метричних тонн у 2021 році. Міністерство сільського господарства США прогнозує зростання імпорту птиці до 17,5 мільйонів метричних тонн до 2031 року. Для порівняння, імпорт свинини, за прогнозами, зросте до 14,8 мільйонів метричних тонн до 2031 року, а імпорт яловичини, як очікується, зросте до 14,3 мільйона метричних тонн [7].

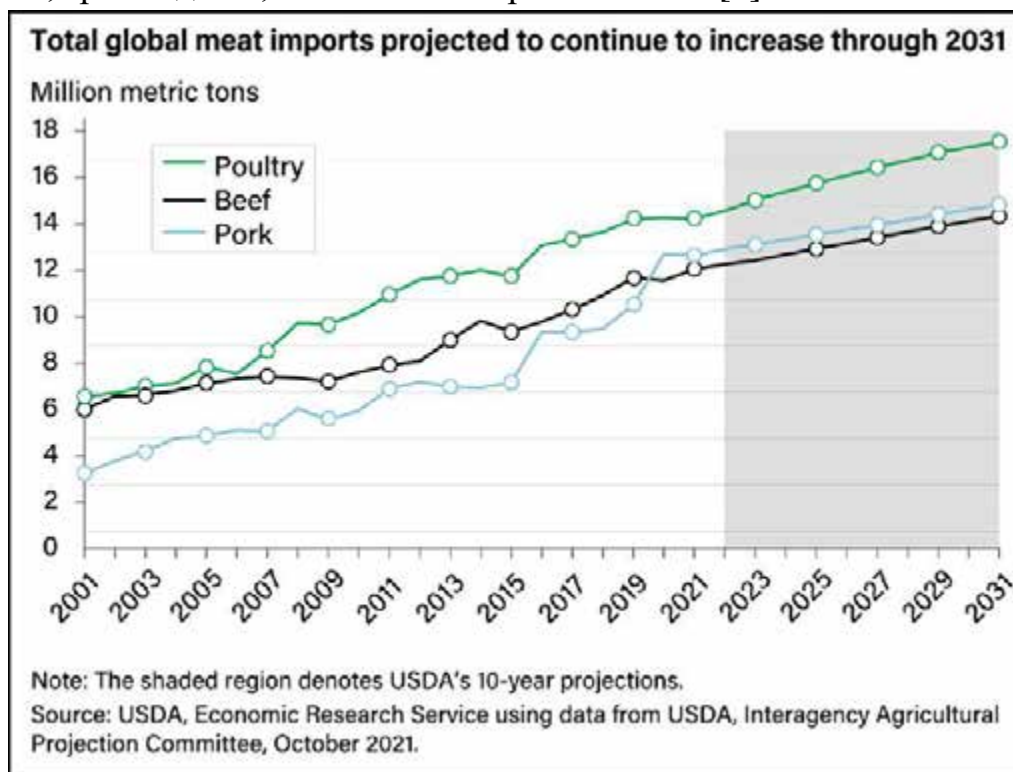


Рис. 1 Діаграма зростання світового імпорту м'яса з прогнозованим періодом до 2031 року.

Збільшення кількості птахівничих ферм в свою чергу підвищує ризик спалахів захворювань [1]. Однією з найголовніших проблем, з якою галузь птахівництва стикається протягом останніх кількох десятиліть, є контроль та запобігання хвороб птиці. Хвороби птиці негативно впливають на добробут тварин та впевненість споживачів у безпеці та якості продукції птахівництва, ці фактори спричиняють значні втрати виробництва у галузі птахівництва.

Інфекційні захворювання, що створюють загрозу для даної галузі, включають в себе хворобу Ньюкасла, інфекційну бурсальну хворобу, хворобу Марека, віспу курей, інфекційний бронхіт, пташиний грип, міксоплазмоз, курячу анемію та кокцидіоз [2, 3, 4, 5].

В розвинених країнах у галузі птахівництва застосовуються методи біозахисту, незважаючи на це, згідно даних Продовольчої та сільськогосподарської організації за 2020 рік [6] хвороби птиці спричинили втрати, що оцінювалися в 23% від валової вартості продукції птахівництва. Отже, для зменшення економічних втрат, велике значення має створення економічно ефективних, інтегрованих систем контролю захворювань – розробка профілактичних і терапевтичних вакцин.

Хвороба Ньюкасла вважається однією з найбільш поширених вірусних хвороб свійської птиці, яка суттєво заважає розвитку птахівництва у світі, а також призводить до значних економічних збитків [43]. Хвороба має особливо високий вплив на курей, у цій галузі вона завдає величезних економічних збитків через високу смертність, зниження виробництва яєць, а також обмеження міжнародною торгівлею птицею та продуктами з неї. Етіологією захворювання є вірус хвороби Ньюкасла (NDV), високоплеоморфний вірус, що належить до родини Paramyxoviridae.

Для запобігання погіршення епізоотичної ситуації та значних економічних збитків, господарствами використовуються вакцини проти різноманітних хвороб птиці. Отже, зростання ринку вакцин в першу чергу пояснюється швидким зростанням виробництва птиці в усьому світі в поєднанні зі зростанням кількості захворювань серед птиці.

Перед галуззю птахівництва на сьогоднішній день постає велика кількість проблем, що, в поєднанні з постійно зростаючим попитом на продукцію птахівництва, створює все більшу необхідність застосування біотехнології для боротьби з несприятливими чинниками. Біотехнологія охоплює всі види технологій, що можна використати для покращення здоров'я птиці та підвищення ефективності виробництва. Боротьба з інфекційними захворюваннями є справді ваговою проблемою для птахівництва, проте досягнення в сфері виробництва вакцин мають значні перспективи для профілактики та контролю захворювань.

Ключовими компаніями на світовому ринку вакцин для птиці є Boehringer Ingelheim International GmbH, Ceva, Zoetis, Elanco, Merck & Co., Inc., Hester Biosciences Limited, Vaxxinova International BV, Venkys India, Calier, KM Biologics, Phibro Animal Health Corporation. Обсяг світового ринку вакцин для домашньої птиці оцінювався в 1,9 мільярда доларів США в 2022 році, і очікується, що з 2023 до 2030 року він буде зростати на 7,40% у середньому за рік. Зростаючий обсяг досліджень і розробок продукту, зростаюча кількість захворювань у домашньої птиці, попит на забезпечення джерела їжі, а також обізнаність є одними з ключових рушійних сил цього ринку. Сегмент ослаблених живих вакцин мав найбільшу частку доходу понад 30,0% у 2022 році. Ці типи вакцин можуть спонукати імунну систему виробляти більшу кількість антитіл порівняно з іншими типами вакцин [8].

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Опис та характеристика вакцин

Вакцини – біотехнологічні препарати на основі бактерій, вірусів або продуктів їх життєдіяльності, застосовуються для активної імунізації людей та тварин з метою профілактики та специфічного лікування захворювань інфекційної етіології. Термін «вакцина» включає різні препарати: живі атенуйовані, інактивовані, субодиничні, рекомбінантні, синтетичні та анатоксини.

Розвиток вакцин можна простежити починаючи з відкриття XVIII сторіччя, що біологічний препарат, отриманий з ослабленого чи вбитого збудника захворювання, може сприяти утворенню імунітету для захисту від даного захворювання [9]. З плином часу та розвитком науки і технологій утворився широкий спектр нових вакцин.

На даний час, класифікація вакцин, відповідно до природи антигену, складається з трьох основних груп: вакцини першого покоління (живі аттенуйовані та інактивовані вакцини), вакцини другого покоління (субодиничні вакцини, що складаються переважно з білкових антигенів та рекомбінантних білків) і вакцини третього покоління (рекомбінантні вектори та ДНК і мРНК вакцини).

Живі аттенуйовані вакцини.

Перша жива аттенуйована вакцина для свійської птиці була розроблена Луї Пастером у 1880-ті роки проти пташиної холери. Зниження вірулентності збудника (*Pasteurella multocida*) досягалося шляхом багаторазового перезараження лабораторних тварин [9].

Незважаючи на беззаперечний успіх живих ослаблених вакцин у створенні тривалого імунітету (імунітету, опосередкованого як клітинами, так і антитілами), і контролю над багатьма інфекційними захворюваннями домашньої

птиці, ймовірність реверсії до вірулентності залишається однією з головних проблем, пов'язаних із цими вакцинами. Типовим прикладом є рецидивні спалахи хвороби Ньюкасла, пташиного грипу та інфекційної бурсальної хвороби у вакцинованих курчат [1].

Інактивовані вакцини.

Розробка інактивованих вакцин почалася наприкінці 18 століття шляхом знищення збудника за допомогою фізичних (тепло) або хімічних (формальдегід, діетилпірокарбонат і  $\beta$ -пропріолактон) процесів для денатурації білків або пошкодження нуклеїнових кислот, таким чином усуваючи його інфекційність. [1, 10, 11]. Однак деякі недоліки все ще пов'язані з цими методами інактивації, включаючи їхній вплив на антигенну структуру збудника та значну варіабельність у відтворюваності між методами інактивації, а також потенційне забруднення хімічними залишками.

Розвиток технологій зіграв певну роль у виробництві інактивованих вакцин. Технологія гамма-опромінення, з'явилася як швидка та безпечна альтернатива для інактивації організмів з обмеженим або відсутнім впливом на антигенні детермінанти [12]. Незважаючи на ці досягнення, наразі немає комерційних вакцин, інактивованих опроміненням, для промислового птахівництва. Проводяться дослідження для вивчення потенціалу кількох перспективних опромінених вакцин проти різних патогенів, у тому числі вірусних, таких як вірус пташиного грипу [13]; бактеріальні, такі як *Salmonella enterica var. Typhimurium* [14]; і протозойні, такі як *Eimeria spp.* [15, 16].

Незважаючи на широке використання вакцин першого покоління, повторювані зміни в антигенності певних патогенів через дрейф і зсув антигену створюють потенційний ризик майбутніх невдач вакцинації цими вакцинами. Тому необхідна постійна оцінка та оновлення вакцини, щоб відповідати частим антигенним змінам [45]. Тож, сучасна біотехнологія та геномні інструменти

забезпечили засоби для створення вакцин нового покоління, щоб подолати недоліки, пов'язані зі звичайними вакцинами.

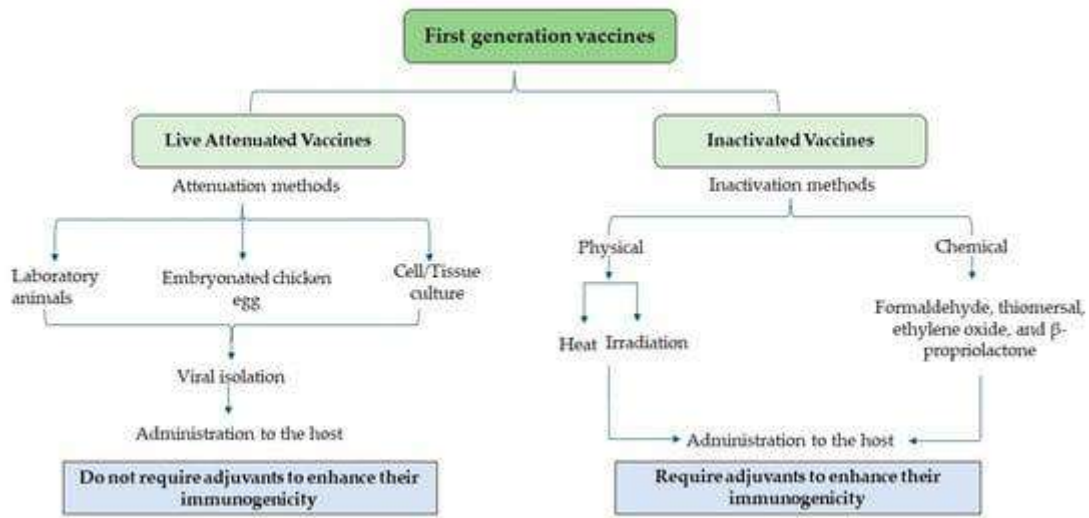


Рис. 1.1. Схематична діаграма: вакцини першого покоління.

Субодиничні та компонентні вакцини — це імуногенні препарати, що складаються з окремих хімічних компонентів, виділених зі структури мікробних клітин чи вірусів. До таких компонентів відносять нуклеїнові кислоти (ДНК або РНК), рибосоми, білки, ліпополісахариди, та вуглеводно-ліпопротеїнові комплекси, які містять захисні антигени і походять з мікробних клітин.

Компонентні вакцини мають низку переваг порівняно з живими та інактивованими вакцинами. Вони менш реактогенні, характеризуються імунологічною спрямованістю, є очищеними препаратами бактеріального або вірусного походження і зазвичай не викликають побічних імунологічних реакцій під час вакцинації, а також інших ускладнень пов'язаних з використанням біопрепаратів [17].

Вакцини з рекомбінантними компонентами створюються на основі очищених білків, які виробляються за допомогою рекомбінантних мікроорганізмів. Для отримання достатньої кількості антигену, необхідного для виготовлення таких вакцин, у бактерії, дріжджі або клітинні культури вводять клоновану ДНК, що кодує антиген [19].

Синтетичні вакцини — це препарати, що містять штучно створені пептиди, які імітують невеликі фрагменти захисних антигенів мікроорганізмів. Ці пептиди здатні викликати імунну відповідь організму та забезпечувати захист від конкретного захворювання [18, 48].

Одним з основних критеріїв якості вакцин, незалежно від їх виду та способу виробництва, є регламентована реактогенність (допускаються до виробництва лише нереактогенні та слабореактогенні вакцини) [49].

Одна з можливих класифікацій вакцин – за кількістю захворювань чи серотипів збудника, проти яких вона використовується. За даною класифікацією вакцини поділяються на моновалентні та комбіновані (полівалентні) [44]. Моновалентні вакцини – вакцини, що містять один штам збудника захворювання (наприклад: вакцина Полімун Ла-Сота містить вірус ньюкаслської хвороби, штам «Ла-Сота», вакцина Полімун Н-120 містить вірус інфекційного бронхіту курей штам «Н-120»). Полівалентні вакцини – містять кілька штамів одного збудника або збудників кількох різних захворювань (наприклад: вакцина Полімун ІБК мульті містить вірус інфекційного бронхіту курей штам «Н-120» та штам «БК-07», вакцина Полімун Ла-Сота + Н-120 містить вірус ньюкаслської хвороби птиці штам Ла-Сота та вірус інфекційного бронхіту курей штам Н-120).

Стабілізація вакцин.

При ліофілізації існує високий ризик втрати препаратом властивості викликати імунну відповідь (через денатурацію вірусного матеріалу). Також, через порушення умов зберігання та транспортування, наприклад, підвищення температури за межі рекомендованого температурного діапазону, вакцини можуть втратити свою ефективність через руйнування вірусних частинок, особливо це стосується вакцин термолабільних вірусів. Таким чином, одним з найважливіших етапів є забезпечення стабільності вакцини протягом процесів виробництва, зберігання, транспортування та застосування. На вибір

стабілізатору впливає штам вірусу, наявність ад'юванту та очікуваний термін придатності [22].

Незважаючи на використання стабілізаторів, для збереження ефективності живих вакцин під час транспортування необхідна система холодового ланцюга, хоча у країнах, що розвиваються, його збереження може викликати значні труднощі. Враховуючи це, термічна стабільність багатьох доступних вакцин, особливо тих, які призначені для боротьби з міжнародно значущими хворобами тварин, стає критичною проблемою.

Методи ліофілізації та сублімаційного сушіння є одними з найпоширеніших для підвищення стабільності вакцин і активно використовуються для виробництва комерційних живих вакцин. Проте, не всі вакцини сумісні з цим процесом [23]. Крім того, ефективність ліофілізованих вакцин може суттєво знизитися після відновлення [23].

Дослідження альтернативних методів сублімаційного висушування, наприклад: сушіння піною та сушіння розпиленням, принесли багатообіцяючі результати, що в майбутньому дозволять уникнути потреби в заморожування чи

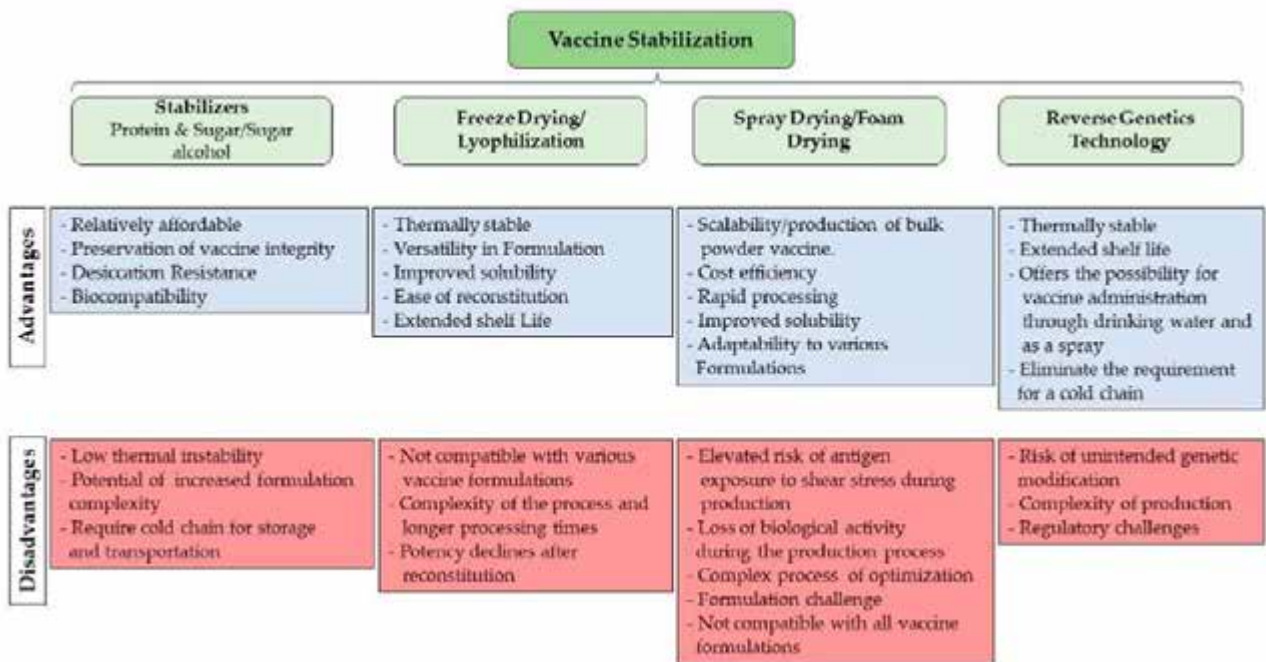


Рис. 1.2. Схематична діаграма: методи стабілізації вакцин.

вакуумі. Ці методи передбачають перетворення рідкої вакцини на дисперговані частинки, значно полегшуючи виробництво порошкових вакцин. Проте, через вплив підвищеної напруги під час розпилення, потенційного утворення поверхонь поділу повітря та води та підвищених температур під час сушіння може призвести до денатурації антигену [25].

#### Вакцини для птахівництва

Вакцинація проти хвороби Ньюкасла має на меті знизити рівень захворюваності та смертності, зменшити поширення та виділення вірусу в стаді, а також захистити від вірусної інфекції. Проте, через обмежені можливості для оцінки виділення вірусу в польових умовах, більшість існуючих вакцин та схем вакцинації в основному спрямовані на зниження клінічних симптомів хвороби. Більшість вакцин, які пропонуються компаніями, забезпечують лише профілактику 90% випадків захворюваності та смертності, без вимог щодо зменшення передачі вірусу.

Також важливо зазначити, що вакцинація є останнім засобом захисту від інфекційних хвороб тварин, а основною лінією оборони залишаються суворі біозахисні заходи, які можуть суттєво знизити ризик інфікування [46]. На ефективність вакцинації також можуть негативно впливати такі фактори, як дефіцит поживних речовин, стрес, імуносупресія, викликана супутніми інфекціями, зокрема вірусом інфекційної бурсальної хвороби (хвороби Гамборо). Щоб досягти ефективного колективного імунітету, за допомогою будь-якої стратегії вакцинації проти хвороби Ньюкасла, достатню дозу вакцини необхідно доставити щонайменше 85% тварин, а титр антитіл складати  $(HI) \geq 3 \log_2$  [20].

Стратегії вакцинації проти хвороби Ньюкасла повинні бути адаптовані відповідно до конкретних умов господарства. Таким чином, вибір відповідних вакцин є критично важливим для ефективності вакцинації та контролю захворювання.

Живі вакцини проти хвороби Ньюкасла містять лентогенні або мезогенні штами. Лентогенні живі вакцини є найпоширенішими у світі, адже викликають стійку імунну відповідь, при цьому мають мінімальний ризик поствакцинальних ускладнень та розвитку хвороби птиці. Типовими штамами є штами La Sota та Hitchner B1, вони належать до другого генотипу та мають високий ступінь спорідненості на антигенному та генетичному рівнях. Титри антитіл, індуковані штамом La Sota, зазвичай доволі високі, що робить вакцину на основі цього штаму оптимальною для використання у країнах, де хвороба Ньюкасла є ендемічною. Штам Hitchner B1, в свою чергу, має дуже низький рівень вірулентності, тож вакцини на основі цього штаму оптимальні для країн, де хвороба Ньюкасла не так поширена або має менш агресивний перебіг, проте, завдяки низькій вірулентності, вакцини на основі штаму Hitchner B<sub>1</sub> краще підходять для вакцинації курчат [55].

Деякі типи живої вакцини базуються на мезогенних штаммах, таких як Mukteswar (третій генотип), Komarov (другий генотип) і Roakin (другий генотип). Ці штами демонструють високу вірулентність і можуть спричиняти смертність курчат. Проте, живі вакцини на основі мезогенних штамів мають високу імуногенність і можуть спровокувати швидку та тривалу відповідь антитіл; ці вакцини можна використовувати у дорослих курей для ревакцинації або екстреної вакцинації. Однак, оскільки мезогенні віруси визначені як вірулентні, мезогенні живі вакцини здебільшого заборонені в багатьох країнах [50].

Загалом, живі вакцини проти хвороби Ньюкасла мають високий рівень безпечності, оскільки вакцинні штами мають низьку вірулентність або її відсутність і зазвичай не викликають поствакцинальних реакцій у курчат. Крім того, живі вакцини можуть індукувати імунітет слизової оболонки, гуморальний і клітинний імунітет і можуть бути доставлені в організм шляхом обприскування або питної води. Однак за певних умов живі вакцини можуть спричинити

небажані поствакцинальні реакції, такі як затримка росту, легкі респіраторні ускладнення та підвищену чутливість до інших патогенів. При транспортуванні та роботі з цими вакцинами потрібно дотримуватись температурного режиму та забезпечити їх охолодження. Крім того, живі вакцини, як правило, застосовуються у молодих курчат, тож наявність материнських антитіл може перешкоджати їх ефективності.

## **1.2. Ринок вакцин для птахівництва в Україні та світі**

Одна з найрозвинутіших та найважливіших галузей тваринництва – птахівництво, адже продукція цієї галузі користується високим попитом. Проте зі збільшенням обсягу та прибутків зростає і рівень ризиків. Основний сегмент ризиків пов'язаний з погішенням епізоотичної ситуації, отже коректна стратегія вакцинації та правильно підібрані препарати є абсолютно необхідними у даній галузі.

Найбільшу частку складає сегмент ослаблених живих вакцин. Дані вакцини викликають швидку та сильну імунну відповідь, порівняно з іншими типами вакцин. Крім того, тривалість імунітету після вакцинації зберігається довше. Найпоширенішими на ринку є живі вакцини спрямовані на захист від таких хвороб як: інфекційний бронхіт, інфекційна бурсальна хвороба, хвороба Ньюкасла. Зростаюча науково-дослідна діяльність, зокрема в галузі вакцинації, спрямована на стримування спалахів вищезгаданих захворювань, сприяє зростанню попиту та розширенню сегменту даних вакцин. Zoetis, наприклад, пропонує широке портфоліо вакцин для домашньої птиці під своїм брендом Poulvac. Сегмент птахівництва приніс 18% доходу компанії від тваринництва у 2020 році [40].

Ринок вакцин проти хвороби Ньюкасла у курей розвивається завдяки попиту на продукти птахівництва, включаючи м'ясо та яйця. Розмір ринку

залежить від кількох факторів, зокрема від поширеності захворювання, політики вакцинації та наявності ефективних вакцин [54].

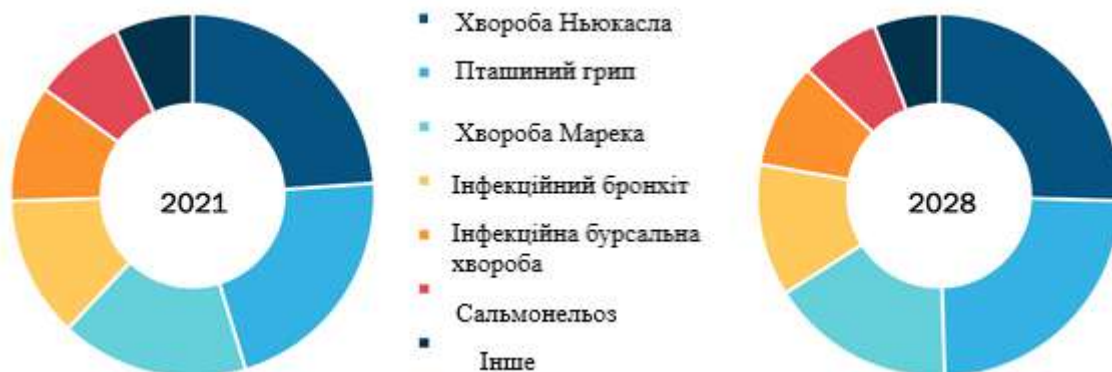


Рис. 1.3. Графік розподілу комерційних вакцин по хворобах

Вакцини проти ньюкаслської хвороби широко застосовуються в птахівництві для запобігання та контролю спалахів цього захворювання. Існують живі атенузовані та інактивовані вакцини, які вводяться птахам за допомогою ін'єкцій або розпилення [55]. Згідно зі звітом Grand View Research, розмір світового ринку вакцин для птиці у 2020 році оцінювався в 2,1 мільярда доларів США, з прогнозованим щорічним зростанням на 6,5% у період 2021–2028 років. Ключовим чинником зростання ринку є підвищений попит на продукцію птахівництва [40].

Всесвітня організація охорони здоров'я тварин (WOAH) рекомендує вакцинацію проти хвороби Ньюкасла у промислових стадах, оскільки вакцини ефективно знижують смертність і клінічні прояви захворювання. У багатьох країнах діють національні програми вакцинації. Наприклад, Міністерство сільського господарства США вимагає обов'язкової вакцинації всіх комерційних птахів проти цієї хвороби [51].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), вакцини проти хвороби Ньюкасла безпечні для людини і не становлять загрози, якщо використовуються відповідно до інструкцій виробника.

В Україні галузь птахівництва є однією з провідних, відповідно, ринок вакцин також має потенціал до зростання. За даними Державної служби статистики України, виробництво м'яса птиці у 2020 році збільшилося на 12,3% порівняно з 2019 роком [42], що стимулює попит на вакцини проти хвороби Ньюкасла.

Глобальний ринок вакцин для птахів, зокрема проти цієї хвороби, очікує на подальше зростання, особливо у країнах, що розвиваються, де зростає попит на продукти птахівництва та посилюються заходи контролю захворювань.

Найвідоміші виробники вакцин проти Ньюкасльської хвороби курей:

- AniCon Labor GmbH
- Animal Science Products Inc.
- Biovac
- Boehringer Ingelheim International GmbH
- ADL BIONATUR SOLUTIONS, S.A.
- Ceva Sante Animale
- Merck & Co.
- Phibro Animal Health Corporation
- Zoetis Inc.

### **1.3. Характеристика родини вірусів Paramixoviridae**

Родина Параміксовірідає (Paramyxoviridae) належить до класу Мононегавірусів (Mononegavirales) і складається з геномного РНК вірусів зі спільними морфологічними та біохімічними властивостями.

Віруси цієї родини можуть бути патогенними для людей, тварин і птахів. Вони мають вигляд сферичних частинок. Геном Параміксовірідає складається з одноланцюгової РНК негативної полярності, що означає, що вона кодує для комплементарної до РНК негативної полярності.

У родині Параміксовірідає виділяють декілька родів. Параміксовіруси можуть бути передані від людини до людини, від тварини до тварини або від тварини до людини. Вони можуть викликати широкий спектр захворювань, від легких інфекцій до тяжких хвороб, таких як кір та паротит [23]

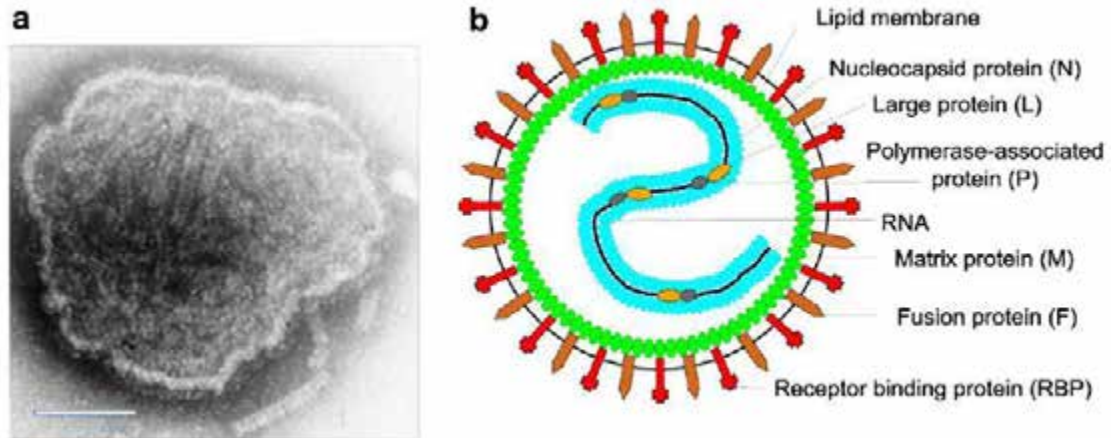


Рис. 1.3. Будова віріону параміксовірусу.

- (А) Електронна мікрофотографія з негативним контрастом інтактної частинки вірусу кору (рід Morbillivirus ). Масштабна шкала = 100 нм.  
 (В) Схематична діаграма частки параміксовірусу в поперечному розрізі.

APMV-1 — це одноланцюговий, негативносмисловий несеgmentований РНК-вірус із довжиною геному 15,2 кб. Геном APMV-1 кодує шість колінеарних генів, які транслюються в шість структурних білків і два неструктурних білка. Структурні білки включають нуклеопротеїн (NP), матрикс (M), злиття (F), гемаглютинін-нейромедіазу (HN), фосфопротеїн (P) і велику РНК-залежну РНК-полімеразу (L) [24].

Вірус локалізується в паренхіматозних органах, головному та кістковому мозку, м'язах, трахеальному слизі, тонкому й товстому відділах кишківника [53].

NDV має гемаглютинуючі властивості щодо еритроцитів птиці, амфібій та рептилій, а також еритроцитів людини, мишей та морських свинок. Здатність аглютинувати еритроцити великої рогатої худоби, овець, кіз, свиней та коней варіює та залежить від штаму збудника [47].

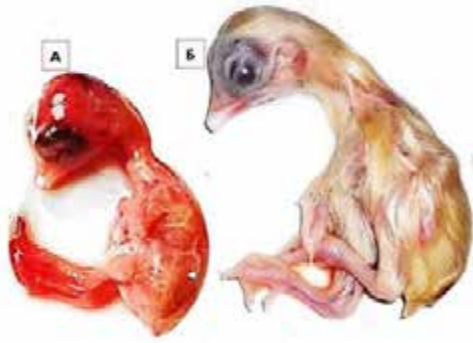


Рис. 1.4. Вплив вірусу ARMV-1 на курячий ембріон

А. Заражений 15-денний ембріон

Б. Здоровий 15-денний ембріон

Крім курей і курчат до експериментального зараження сприйнятливі перепели, голуби, тетерки. За парентерального зараження деякими штамами вірус патогенний для морських свинок, котів, собак та інших ссавців [25].

Розрізняють дев'ять серологічних варіантів збудника.

За патогенністю штами вірусу розділяють на велогенні, мезогенні і лентогенні.

Велогенні – високопатогенні азійські штами вірусу, які у разі експериментального зараження призводять до загибелі усієї птиці (Т, Sato, Miadera).

У разі захворювання, спричиненого цими штамами спостерігається класичний прояв хвороби з ураженням дихальної, травної та нервової систем, а також надзвичайно високою летальністю. Велогенні штами накопичуються в органах хворих курчат (легені, печінка, селезінка, мозок).

Мезогенні штами – мають летальні наслідки для курчат віком 45 – 60 діб та для 25 – 30 % дорослої птиці. До найвідоміших мезогенних штамів належать: Н (вакцинний штам), Muksteswar, Komarov, Roakin. Здебільшого ці штами зумовлюють ураження органів дихання. Накопичуються в таких органах хворих курчат: селезінка, легені, мозок, печінка [52].

Лентогенні – спричиняють легку або інапарантну (безсимптомну) форму захворювання, майже не призводять до загибелі курчат та курячих ембріонів. Лентогенні штами використовуються як вакцинні, наприклад: LaSota, B1, NDV-IRI. Також до лентогенних штамів належать: Hitchner B1, F, Herts 33/56, Texas

GB, Beaudette C, Italien. Хоча вважається, що ці штами є лентогенними і не викликають серйозних наслідків та змін у респіраторних та гермінативних органах (оофорити, сальпінгіти, зниження несучості), проте вони також можуть внаслідок мутації переходити в нетипові штами, що призводить до збільшення їх вірулентності [26].

За тропізмом вірусу (органами-мішенями, які вражаються) велогенні штами поділяються на: вісцеротропні – спричиняють гострий перебіг хвороби з геморагічним ураженням внутрішніх органів і високою смертністю птиці, нейротропні – спричиняють гострий перебіг хвороби з ураженням нервової системи, органів дихання та високою смертністю птиці. Також виділяють асимптоматичні кишкові штами, які викликають руйнування ворсинок і слизової кишківника, проявляються субклінічно [26,53].

#### **1.4. Стабілізація живих вакцин**

Стабілізація вірусу при виробництві живих атенуєваних вакцин є важливим критерієм забезпечення їх ефективності та безпечності використання. Механізм дії вакцин полягає у виклику імунної відповіді організму на збудник, тож необхідним є збереження вірусу в стабільному стані протягом всіх етапів виробництва, зберігання та транспортування [36].

Ліофілізація є одним з найпоширеніших методів стабілізації, проте для покращення ефективності даного методу запобіганню ризиків деградації вірусного матеріалу під час самого процесу ліофільної сушки та покращенню відновлення матеріалу перед використанням. Додавання поверхнево-активних речовин (наприклад, полісорбат, твін, плуронік) і стабілізаторів на основі цукру (наприклад, сахарози, трегалози, декстрази, маніту, сорбіту), білка (наприклад, желатину) або стабілізатори на основі амінокислот (наприклад, аргінін, гліцин, глутамат) можуть запобігти швидкій деградації білкових антигенів, спричиненої

механічними навантаженнями та змінами температури, особливо під час процесу сушіння та транспортування, розподілу та зберігання вакцини [33].

Основні типи стабілізуючих речовин включають в себе: цукри, поліоли, амінокислоти та білки, желефікатори та солі, антиоксиданти. Для досягнення кращого результату, захисту вірусомісного матеріалу на різних етапах ліофілізації та кращого відновлення іноді використовують комбінації стабілізуючих речовин, наприклад, цукри можуть використовуватись разом з поліолами. Такі поєднання дозволяють зменшити втрати активності вірусу та підвищити тривалість зберігання вакцини [37].

Найпоширенішими стабілізаторами для живих вакцин є цукри (сахароза, лактоза та трегалоза). Механізм дії полягає в тому, що дані речовини формують захисну мембрану навколо вірусних часток, перешкоджаючи їх руйнуванню під час ліофілізації.

Такі речовини як манітол та сорбітол (відносяться до поліолів) також широко використовуються для стабілізації ліофілізованих вакцин. Механізм дії полягає в забезпеченні цілісності вірусних білків під час сушіння. Для отримання кращого результату можуть бути ефективно поєднані з цукрами.

Також, для стабілізації вірусу можуть використовуватись білки та амінокислоти. Наприклад, альбумін запобігає руйнуванню вірусних частинок та забезпечує їх стабільність під час ліофілізації та зберігання. Амінокислоти, такі як гліцин, наприклад, в свою чергу забезпечують підтримку кислотного-лужного складу середовища на певному рівні [38].

Схожий механізм дії має желатин у поєднанні з буферними розчинами солей: желатин утворює гелеву плівку навколо вірусних часток, в той час як буферний розчин забезпечує стабільне рН середовища, що також сприяє стабілізації вірусу.

Антиоксиданти, наприклад вітамін С, можуть суттєво подовжити термін зберігання вакцин без втрати вірусної активності матеріалу. Дані речовини захищають матеріал від окислення, отже запобігають деградації вірусного білка та генетичного матеріалу [39].

Сучасні дослідження мають на меті модифікацію стабілізаторів, які б забезпечили стабільність ліофілізованих вакцин при зберіганні за кімнатної температури. Дані дослідження надзвичайно важливі, адже використання холододового ланцюга при доставці у деякі країни не завжди можливо або супроводжується великою кількістю ризиків його переривання.

На стабільність та ефективність живих ліофілізованих вакцин впливає не лише обрана речовина-стабілізатор, а також співвідношення стабілізатору та вірусомісного матеріалу (антигену) у препараті.

Основною діючою речовиною вакцини є антиген, адже він викликає імунну відповідь організму – викликає напрацювання антитіл, що формує специфічний імунітет проти збудника. Як було зазначено вище, під час ліофілізації антигени зазнають значного стресу, що призводить до руйнування вірусних часток і відповідно втрати активності, тож для підвищення стабільності до антигенів додають стабілізатори.

Оптимально підібране співвідношення кількості антигену та стабілізатору є надзвичайно важливим.

При використанні занадто малих кількостей стабілізатору він не забезпечує належного захисту для вірусних часток, отже антиген все одно втрачатиме вірусну активність через дегідратацію та денатурацію чи зміну просторової структури білків.

Використання великої кількості стабілізатору зменшує кількість вірусних часток у дозі введення, що також зменшує імуногенність вакцини. Також, це може вплинути на осмотичний баланс, що призведе до руйнування вірусу.

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Характеристика об'єктів дослідження

Збудником хвороби Ньюкасла є РНК-вірус *Avian orthoavulavirus 1* (APMV-1), який належить до роду *Orthoavulavirus* родини *Paramixoviridae*. Рід *Orthoavulavirus* також включає віруси, що викликають інші хвороби птахів, такі як *Newcastle disease virus* (NDV) і *Avian metapneumovirus* (aMPV) [27].

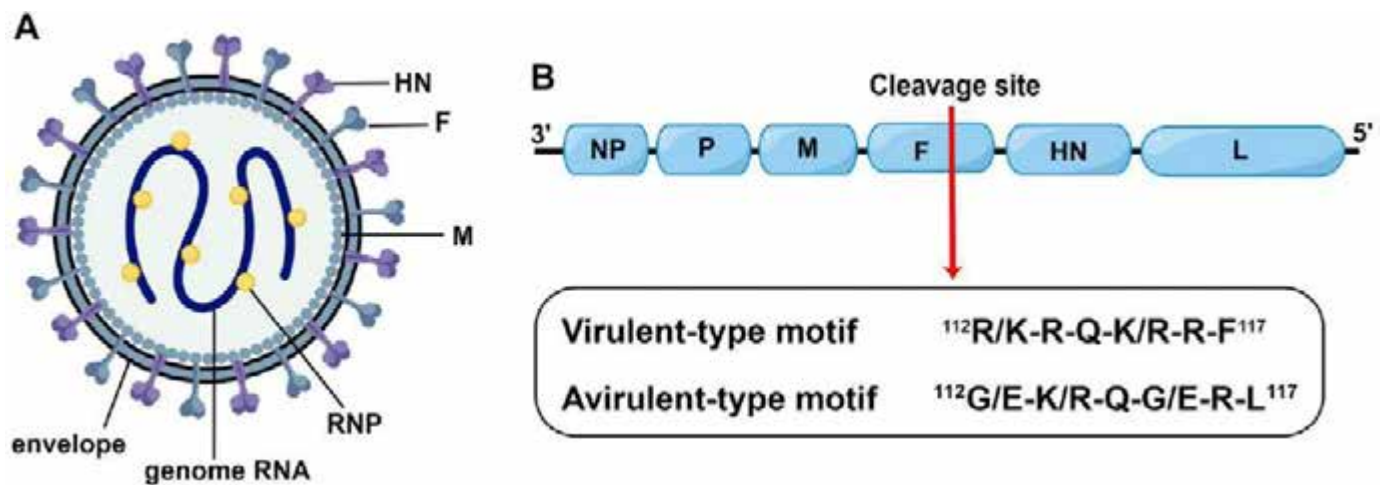


Рис. 2.1. Схематична ілюстрація структури частинок і геному вірусу APMV-1  
 А Ілюстрація структури частинок. HN, гемаглютинін-нейрамінідаза; F, злитий білок; М — матричний білок; RNP, рибонуклеотид-білковий комплекс.  
 В Схематичне зображення структури геному NDV. Червона стрілка вказує місце розщеплення F-білка. Показано типові амінокислотні мотиви сайтів розщеплення вірулентного та авірулентного типу.

Розмір віріону складає 120 – 380 нм. Віріон сферичної або циліндричної форми, оболонковий. Вірус містить два основних антигени: V-антиген, що відповідає за рівень гемаглютинуючої активності, антигенність та імуногенність, а також S-антиген, який виконує функції нейромедіази.

APMV-1 складається з одноланцюгової РНК і має один серотип. Він може бути поділений на декілька генетичних ліній, які можуть відрізнятися за своєю вірулентністю та патогенністю для птахів [28].

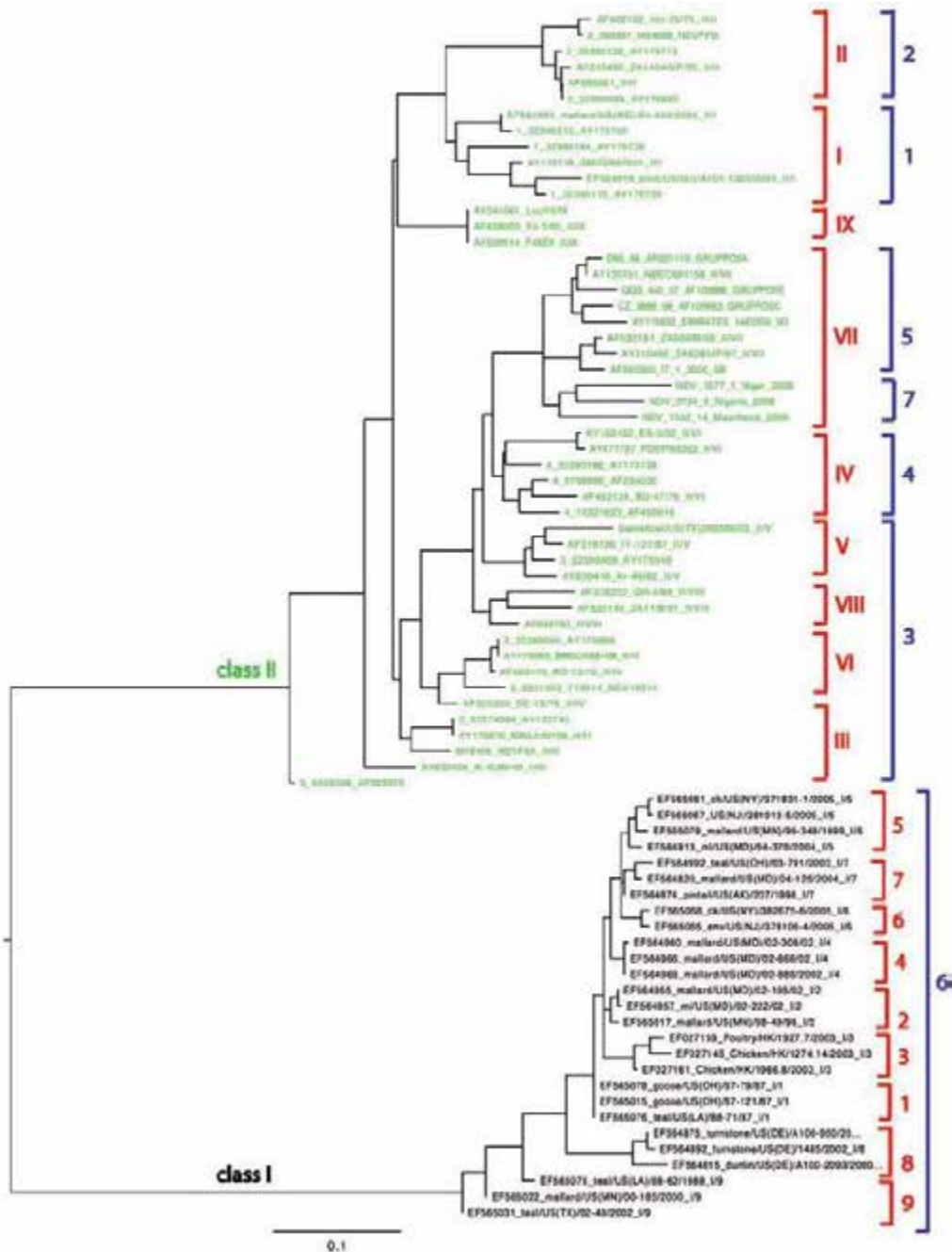


Рис. 2.2. Філогенетичне дерево пташиного параміксовірусу-1. Містить два різні класи (I та II), кожен з яких має кілька генотипів. Номенклатури 2 основних систем генотипування позначені червоним (посилання 44, 83) і синім (посилання 5).

На основі вірулентності віруси АPMV-1 можна поділити на 3 типи:

- високо-вірулентні штами (велогенні віруси хвороби Ньюкасла, vNDV), які можуть спричинити сильну хворобу з високою смертністю серед птахів;
- середньо-вірулентні штами (мезогенні віруси хвороби Ньюкасла, mNDV), які можуть спричинити середньої важкості хворобу;
- низько-вірулентні штами (лентогенні віруси хвороби Ньюкасла, lNDV), які можуть спричинити легку форму хвороби або бути безсимптомними.

APMV-1 є різноманітним за своєю стійкістю до фізичних та хімічних факторів довкілля. Зокрема, він є досить чутливим до дезінфікуючих засобів та високих температур.

Для ефективного інактивації вірусу рекомендується використовувати різні хімічні засоби дезінфекції, такі як хлор, формальдегід, перекис водню, спирт та інші. При цьому важливо дотримуватись встановлених доз та тривалості дії дезінфікуючих засобів, оскільки недостатнє їх використання може не забезпечити повної інактивації вірусу. Для знищення вірусу АPMV-1 в забруднених матеріалах, рекомендується застосовувати дезінфікуючі засоби, такі як 70% етанол або 0,1% натрій гіпохлориту [29].

Також важливо зазначити, що АPMV-1 термолабільним і може бути інактивованій високими температурами. Точна температура та тривалість обробки, необхідні для інактивації вірусу, можуть залежати від конкретних умов обробки та використаного методу, а також штаму вірусу, що інактивується.

Отже, використання дезінфікуючих засобів та високих температур є ефективними методами знезараження поверхонь та інструментів від вірусу хвороби Ньюкасла. Однак, враховуючи різноманітність штамів, які відрізняються стійкістю до хімічних та фізичних факторів, необхідно вживати заходів

зnezараження, що відповідають даному штаму та джерелу розповсюдження вірусу [30].

Температура зберігання АPMV-1 залежить від того, в якій формі зберігається вірус. Якщо вірус знаходиться у вигляді живих культур, його зазвичай зберігають при температурі – 70°C у спеціалізованих морозильних камерах або в рідкому азоті (температура – 196°C) для максимального збереження рівня вірусної активності.

Вірусовмісні матеріали, такі як пера, кров, тушки уражених тварин, можна зберігати при температурі – 20°C або нижче. Дані температури дозволяють зберегти вірусну інфекційність матеріалів, перешкоджаючи при цьому його розповсюдженню [31].

Зберігання вірусу АPMV-1 вимагає дотримання вимог біологічної безпеки другого рівня. Протоколи даного рівня передбачають правила зберігання, транспортування та обробки вірусовмісних матеріалів [32].

## 2.2. Речовини, що використовуються для стабілізації вірусу при виробництві живих атенуйованих вакцин

Манітол. Широко використовується у фармацевтичних препаратах та харчових продуктах. Це один з найпоширеніших допоміжних компонентів у



Рис. 2.3. Манітол. Mannitol, BioXtra, Sigma-aldrich

ліофілізованих ін'єкційних продуктах, де він застосовується як допоміжна речовина. За своєю природою манітол – цукровий спирт (поліол). Зазвичай використовується у якості розчину, що є прозорою безбарвною рідиною, в сухому вигляді – білий кристалічний порошок. Температура плавлення складає 165-169°C, термостабільний (за температури плавлення не розкладається), густина 1,52 г/см<sup>3</sup>, високорозчинний у гарячій воді, слабо розчинний у органічних розчинниках.

Низька проникність через біологічні мембрани робить манітол біологічно інертним, що підвищує безпеку його використання. Має високу здатність до кристалізації з водних розчинів, негігроскопічний, що і обумовлює його популярність як стабілізатору в ліофілізованих препаратах.

Манітол також сприяє формуванню механічно міцного та фармацевтично привабливого ліофілізату, що є важливим для ліофілізованих продуктів. Манітол допомагає запобігти утворенню кристалів льоду в процесі заморожування, що може пошкодити структуру молекул антигенів. Також манітол зменшує ймовірність денатурації білків, що зберігає їх ефективність навіть після тривалого зберігання. При виконанні даної роботи використовували Mannitol, BioXtra,  $\geq 98\%$  (HPLC), Sigma-aldrich, Steinheim, Germany.



Рис. 2.4. Пептон.  
N-Z-Amine® A,  
Sigma-aldrich

Пептон – білковий гідролізат, що отримують розщепленням білків до менших пептидів і амінокислот, не має точної хімічної формули. Являє собою темно-брунату прозору рідину, погано розчиняється в органічних розчинниках, в сухому вигляді є помірно гігроскопічним, нестійкий до високих температур. Пептон стабілізує білкові молекули вірусного матеріалу, запобігаючи порушенню їх структурної цілісності. Також виконує роль поживного середовища під час відновлення після розведення вакцини перед введенням, що сприяє кращому відновленню.

Пептони є економічно доступними та недорогими, порівняно з іншими можливими стабілізаторами, що робить їх популярними для використання у комерційних вакцинах. При виконанні даної роботи використовували N-Z-Amine® A, Sigma-aldrich, Steinheim, Germany.



Рис. 2.4. ДМСО.  
Dimethylsulfoxide,  
BioUltra, Sigma-aldrich

Диметилсульфодioxid (ДМСО).

Характеристики ДМСО: прозора безбарвна рідина, температура плавлення 18,5-19,5°C, температура кипіння 189-193°C, густина 1,1 г/см<sup>3</sup>, полярний апротонний розчинник, легко проникає крізь біологічні мембрани, високо розчинний у воді та багатьох інших органічних і неорганічних розчинниках. При змішуванні з іншими рідинами знижує їхню точку замерзання і запобігає утворенню кристалів льоду, тому широко використовується як кріопротектор. При виконанні даної роботи використовували Dimethyl sulfoxide, BioUltra, for molecular biology, sterile-filtered, ≥99.5% (GC), Sigma-aldrich, Steinheim, Germany.

### 2.3. Підготовка розчинників для живих ліофілізованих вакцин

Ліофілізовані вакцини це сухий вірусомісний препарат, що потребує відновлення перед застосуванням. Підбір розчинника для ліофілізованої вакцини є надзвичайно важливим, адже від цього залежить рівень відновлення структури та функціональності вірусу після процесу ліофілізації.

Під час підготовки розчинників для ліофілізованих вакцин важливо забезпечити стерильність, стабільність, відповідну іонну силу та кислотно-лужний баланс. Ці параметри є ключовими для збереження властивостей вакцини після відновлення. Деякі віруси після відновлення особливо чутливі до осмотичного чи термічного стресу, у цьому випадку до розчинників можуть додавати стабілізатори, такі як цукри (трегалоза, сахароза) або білкові стабілізатори (наприклад, альбумін). Ці речовини покращують стабільність вірусних часток, підтримуючи їхню структуру та ефективність.

Вибір розчиннику залежить від чутливості вірусу до зміни кислотності середовища та осмотичного тиску. Усі розчинники обов'язково стерилізуються

для уникнення контамінації та забезпечення належної якості вакцини для подальшого використання.

Визначення осмотичної сили розчинника є важливим етапом підготовки, адже розчинення ліофілізату створює осмотичний стрес, що призводить до пошкодження та руйнування білкових оболонок вірусу і зниження вірусної активності та імуногенності. Також надзвичайно важливою при підборі є здатність розчинника стабілізувати значення рН. Стабільна кислотність також сприяє збереженню структури білків, що зменшують ризик денатурації та агрегації.

У даній роботі використовували такі розчинники: стерильна дистильована вода, фізіологічний розчин, фосфатно-сольовий буфер.

Стерильна дистильована вода. Підходить для вакцин, стійких до осмотичних та рН змін. Завдяки відсутності іонів знижує ризик контамінації, але може викликати осмотичний стрес через відсутність солей.

Фізіологічний розчин. Забезпечує осмотичний тиск, наближений до умов клітин, тому підходить для більшості ліофілізованих вакцин.

Буферні розчини. Фосфатно-сольові розчини стабілізують рН, та зменшують ризик осмотичного стресу.

#### **2.4. Методика дослідження активності вірусу та імуногенності**

Реакція гемаглютинації.

При проведенні даного дослідження була використана реакція гемаглютинації, в основі якої здатність вірусів адсорбуватися на еритроцитах та «склеювати» їх. Ця властивість пов'язана з білком гемаглютиніном, що міститься у суперкапсидній оболонці вірусів.

Є два види реакції гемаглютинації, якісна – використовується для визначення наявності певного вірусу в досліджуваному матеріалі, та кількісна – визначення титру вірусу в матеріалі.

Компоненти реакції:

- досліджуваний вірусовмісний матеріал;
- 1% суспензія еритроцитів, до яких вірус виявляє гемаглютинуючі властивості (для вірусу хвороби Ньюкасла використовують кров півнів з антикоагулянтном).

Суспензію еритроцитів отримували за наступною схемою:

- еритроцити відмили стерильним фосфатно-сольовим буферним розчином;
- центрифугували (супернатант має бути прозорим);
- супернатант зливали;
- з осаду готували 1% суспензію еритроцитів у стерильному фосфатно-сольовому буферному розчині.

Якісна реакція гемаглютинації. На предметне скельце наносили краплю досліджуваного вірусовмісного матеріалу та краплю суспензії еритроцитів. За наявності гемаглютинуючого вірусу з'являється осад у вигляді червоних пластівців в результаті склеювання еритроцитів. Метод дозволяє лише визначити наявність чи відсутність вірусу в матеріалі, а не його кількість.

Кількісна реакція гемаглютинації. Реакція проводиться на 96-луночних мікропланшетах. В ряді лунок готували ряд послідовних двократних розведень:

- в кожен лунку вносили 0,05 мл фосфатно-сольового буферного розчину;
- в першу лунку вносили 0,05 мл вірусовмісного матеріалу;
- після трьократного перемішування, 0,05 мл отриманого розчину у першій лунці, переносили в другу;
- аналогічно продовжують до останньої лунки у ряду.

Таким чином, отримали ряд розведень 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 і так далі. В контрольній лунці змішували рівні об'єми фосфатно-сольового буферного

розчину та еритроцитів, а в інші додавали по 0,05 мл суспензії еритроцитів.



Рис. 2.5. Додавання суспензії еритроцитів до розведень вірусного матеріалу у лунках мікропланшета

Мікропланшет струшують та залишають на 30 хвилин.

Облік реакції гемаглютинації. При позитивній реакції на дні лунки утворюється осад у вигляді парасольки. При негативній реакції та в контролі на дні лунки утворюється осад у вигляді червоного гудзика (еритроцити не склеюються). Облік реакції вели за чотирма варіантами: 100% гемаглютинація, 50% гемаглютинація, 25% гемаглютинація та 0% - реакція негативна.

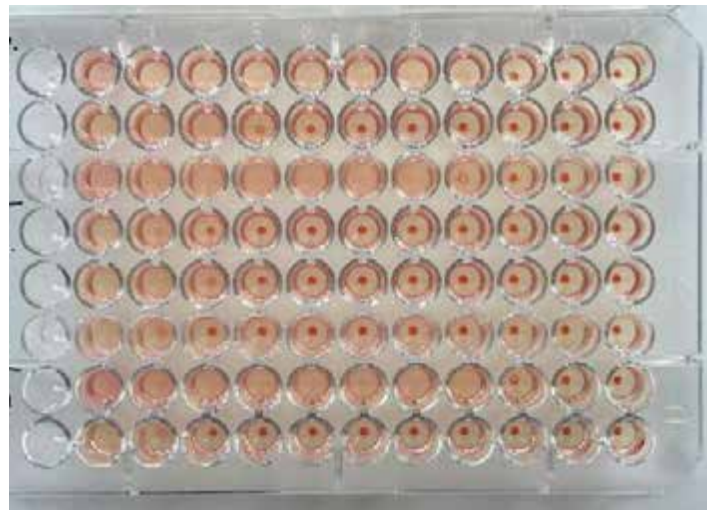


Рис. 2.6. Результати кількісної реакції гемаглютинації за 30 хвилин після змішування з суспензією еритроцитів

Найбільше розведення вірусомісного матеріалу, що викликає гемаглютинацію не менше ніж на 50% називається гемаглютинуючим титром вірусу та відповідає одній гемалютинуючій одиниці (ГАО). Наприклад, якщо 1 ГАО це 1:256, то розведення 1:4 відповідає 64 ГАО [35].

Реакція затримки гемаглютинації.

Використовували реакцію затримки гемаглютинації, основою якої є взаємодія антитіл з антигенами. В ході реакції антитіла (антигемаглютиніни) блокують гемаглютинін вірусу, в результаті він втрачає можливість склеювати еритроцити. Реакцію використовують для дослідження сироватки крові на наявність антитіл до антигену.

Компонентами реакції були:

- стандартний вірус (еталонний зразок);
- досліджувана сироватка;
- 1% суспензія еритроцитів (аналогічна як для реакції гемаглютинації).

Реакцію гальмування гемаглютинації проводили у два етапи:

- визначення або перевірка гемаглютинуючого титру вірусу за допомогою реакції гемаглютинації для розрахунку робочої дози;
- визначення титру антитіл у пробах сироватки крові.

Після перевірки титру стандартного вірусу за допомогою РГА готували робоче розведення вірусу зі значенням 4 ГАО, виходячи з титру. Для цього розводили вихідний вірус фосфатно-сольовим буферним розчином у таку кількість разів, яку отримали при діленні значення титру на 4. Наприклад: при значенні титру вихідного вірусу 512, необхідно розвести його фосфатно-сольовим буферним розчином у відношенні 1 мл вихідного вірусу та 127 м буферного розчину.

Після приготування розведення проводили контроль 4 ГАО:

- в 4 лунки вносили по 0,05 мл фосфатно-сольового буферного розчину;
- в першу лунку вносили 0,05 мл робочого розведення вірусу;
- титрували.

За результатами титрування в першій та другій лунках має бути 100% аглютинація (також можлива аглютинація 50% для другої лунки), у третій лунці – 25%, і відсутність аглютинації у четвертій лунці.

Постановка реакції затримки гемаглютинації. Реакція проводилась на 96-луночних мікропланшетах. В ряді лунок готували ряд послідовних двократних розведень:

- в кожную лунку вносили 0,05 мл фосфатно-сольового буферного розчину;
- в першу лунку вносили 0,05 мл дослідної сироватки;
- після трьократного перемішування, 0,05 мл розчину, отриманого у першій лунці, перенесли в другу;
- аналогічно продовжували до останньої лунки у ряду.

Таким чином, отримали ряд розведень 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 і тд. В усі лунки внесли робоче розведення вірусу об'ємом 0,05 мл, обережно струшували мікропланшет після внесення розведення вірусу .

За 25 хвилин, після змішування вірусу та сироватки, у кожную лунку вносили 0,1 мл (подвійний об'єм відносно фосфатно-сольового буферного розчину) 1% суспензії еритроцитів, після чого залишили мікропланшет на рівній поверхні ще на 30-40 хвилин.

Також готували дві контрольні лунки:

- для контролю сироватки на ізоаглютинацію (0,05 мл фосфатно-буферного розчину, 0,05 мл сироватки та 0,1 мл суспензії еритроцитів);

- для контролю еритроцитів на спонтанну аглютинацію (0,05 мл фосфатно-буферного розчину та 0,05 мл суспензії еритроцитів).

В обох контролях аглютинація має бути відсутня.

Облік реакції затримки гемаглютинації. При наявності у сироватці антитіл спостерігається затримка гемаглютинації – утворюється осад у вигляді гудзика. Титром сироватки вважається найбільше розведення, за якого реакція гемаглютинації 4 ГАО вірусу відсутня.

За отриманими результатами визначали ефективність імунізації шляхом ділення сумарної кількості проб з титром антитіл 1:16 (для інактивованих вакцин) на загальну кількість досліджуваних сироваток та виражають у відсотках [34].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel.

## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ РОБОТИ

### 3.1. Вплив речовини-стабілізатору на збереження гемаглютинуючих властивостей вірусу в ліофілізованих живих вакцинах

Під час дослідження порівнювали збереження гемаглютинуючої активності вірусовмісного матеріалу двох штамів вірусу хвороби Ньюкасла: *Hitchner B1* та *LaSota*, з вихідним титром 9,2 Ig<sub>2</sub> або 588 ГАО при використанні у якості стабілізаторів таких речовин як: манітол, диметилсульфодіоксид (ДМСО) та пептон, один зі зразків також був висушений без стабілізатору. Стабілізатор та антиген (вірусовмісний матеріал) змішували у пропорції 40:60, у якості розчинника використовували фосфатно-сольовий буферний розчин.

Вимірювали вірусну активність матеріалу після додавання стабілізатору до ліофільної сушки, одразу після ліофілізації, а також при різних температурах зберігання: 2 – 8 °С, 10 – 12 °С, 16 – 18 °С, 20 – 25 °С протягом 12 місяців.

Одразу після висушування титр препарату складав 512 ГАО для усіх стабілізаторів, вірусна активність зразка без стабілізатору склала 274 ГАО.

Вимірювання проводили через два тижні після ліофілізації, через місяць і далі кожні 3 місяці протягом наступних 12 місяців. Для манітолу та пептону титри лишались незмінними, тоді як для диметилсульфодіоксиду після 6 місяців зберігання почали падати і склали 478 та 446 ГАО на 9 та 12 місяць зберігання відповідно, для препаратів обох штамів.

У якості контролю використовували стандартний вірус, що зберігали за температури –80°С.

Активність вірусу визначали за допомогою реакції гемаглютинації (РГА) за стандартною методикою. Використовуючи 96-луночні мікропланшети, готували двократні розведення дослідних зразків у фосфатно-сольовому буфері від 1:2 до 1:4096. В кожен лунку вносили 1% суспензію еритроцитів півня, після

чого мікропланшети витримували протягом 30 хвилин за кімнатної температури та проводили облік реакції титру активності вірусу в гемаглютинуючих одиницях.

Таблиця 3.1

Гемаглютинуючі властивості вакцинного вірусу хвороби Ньюкасла при температурах 14 – 18 °С протягом 12 місяців

Зразок	Експозиція					
	2 тиж.	1 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.
<i>Hitchner B1</i> + манітол	512	478	478	446	416	388
<i>LaSota</i> + манітол	512	512	478	446	416	388
<i>Hitchner B1</i> + пептон	512	512	446	416	416	338
<i>LaSota</i> + пептон	512	512	478	446	416	338
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	512	478	416	362	194	168
<i>LaSota</i> + ДМСО	512	478	446	362	194	168

За температурного режиму 14 – 18 °С отримали такі результати:

У зразках, де у якості стабілізатору був використаний диметилсульфодіоксид на шостий місяць зберігання спостерігали різке падіння гемаглютинуючої активності до 362 ГАО (8,5 lg<sub>2</sub>). Протягом подальших 6 місяців досліді вірусна активність даних зразків продовжила стрімко знижуватися і в кінці досліді склала 7,4 lg<sub>2</sub>.

Пептон у якості стабілізатору зберігав вірусну активність матеріалу стабільною (на вихідному рівні) протягом першого місяця. Починаючи з третього місяця по дев'ятий спостерігався помірний спад титру вірусного матеріалу (для матеріалу штаму *Hitchner B1* зміни відбувались трохи швидше, проте на 9 місяць досліді отримали однакові результати 416 ГАО), але з 9 по 12 місяць зберігання спостерігався різкий спад до 338 ГАО (8,4 lg<sub>2</sub>).

При використанні у якості стабілізатору манітолу гемаглютинуюча активність вірусу почала знижуватись для штаму *Hitchner B1* в перший місяць, для штаму *LaSota* з першого по третій місяці. За 12 місяців при використанні стабілізатору манітол для вірусного матеріалу обох штамів гемаглютинуюча активність складала 388 ГАО, що дорівнює  $8,6 \lg_2$ .

Таблиця 3.2

Гемаглютинуючі властивості вакцинного вірусу хвороби Ньюкасла при температурах 20 – 25 °С протягом 12 місяців

Зразок	Експозиція					
	2 тиж.	1 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.
<i>Hitchner B1</i> + манітол	478	478	446	416	362	338
<i>LaSota</i> + манітол	478	478	478	446	416	416
<i>Hitchner B1</i> + пептон	478	478	446	388	256	128
<i>LaSota</i> + пептон	478	478	446	416	256	128
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	478	446	362	256	168	90
<i>LaSota</i> + ДМСО	478	446	362	256	168	90

При температурному режимі зберігання 20 – 25 °С протягом 12 місяців отримали такі результати:

У зразках, де у якості стабілізатору був використаний диметилсульфодіоксид на третій місяць зберігання спостерігали різке падіння гемаглютинуючої активності до 362 ГАО ( $8,5 \lg_2$ ). Протягом подальших 9 місяців досліді вірусна активність даних зразків продовжила стрімко знижуватися і в кінці досліді склала  $6,5 \lg_2$ .

Пептон у якості стабілізатору хоча і не забезпечив збереження вірусної активності зразків у повному обсязі, проте до шостого місяця досліді спостерігався помірний спад титру вірусного матеріалу. Для матеріалу штаму *Hitchner B1* зміни відбувались трохи швидше, проте після доволі різкого падіння

титрів на 9 місяць досліду отримали однакові результати 256 ГАО, з 9 по 12 місяць зберігання спостерігався також різкий спад до 128 ГАО ( $7,0 \lg_2$ ).

При використанні у якості стабілізатору манітолу гемаглютинуюча активність вірусу знизилась, як і у інших зразках, протягом перших двох тижнів. Проте трималась на цьому рівні для штаму *Hitchner B1* в перший місяць, для штаму *LaSota* з першого по третій місяці. Загалом, за 12 місяців при використанні стабілізатору манітол для вірусного матеріалу обох штамів гемаглютинуюча активність складала 388 ГАО, що дорівнює  $8,6 \lg_2$ .

Згідно до отриманих результатів зробили такі висновки: при використанні манітолу у якості стабілізатору зберігається найвищий рівень інфекційної активності протягом 12 місяців при умові зберігання за температури  $14 - 18 \text{ }^\circ\text{C}$  та  $20 - 25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Втрата гемаглютинуючої активності при використанні ДМСО як стабілізатору відбувається за будь-якого температурного режиму найшвидше, порівняно з іншими стабілізаторами у даному досліді, особливо після 6 місяців зберігання, це призводить до висновку, що, хоча диметилсульфодіоксид і є ефективним кріопротектором, для тривалого зберігання живих ліофілізованих вакцин не підходить. Пептон зберігає вірусну активність препарату на кращому рівні при обох температурних режимах ніж диметилсульфодіоксид, проте все одно поступається манітолу, до того ж, після 6 – 9 місяця зберігання можна спостерігати доволі різкий спад гемаглютинуючої активності, що може бути пов'язано з природою походження пептону.

### **3.2. Вплив розчинника на відновлення живих ліофілізованих вакцин**

В даному досліді порівнювали вплив розчинників на відновлення ліофілізованого вірусомісного матеріалу. Використовували ліофілізований вірусомісний матеріал двох штамів вірусу хвороби Ньюкасла: *Hitchner B1* та *LaSota*, з вихідним титром до ліофілізації  $9,2 \lg_2$  або 588 ГАО, стабілізатори –

манітол, диметилсульфодіоксид та пептон. Порівнювали такі речовини у якості розчинників: дистильована вода, фосфатно-сольовий буферний розчин та фізіологічний розчин (0,9%), всі розчинники були стерилізовані методом автоклавування при температурі 121 °С протягом 30 хвилин.

Активність вірусу визначали за допомогою реакції гемаглютинації (РГА) за стандартною методикою. Використовували 96-луночні мікропланшети, готували двократні розведення дослідних зразків у фосфатно-сольовому буфері від 1:2 до 1:4096. В кожен лунку вносили 1% суспензію еритроцитів півня, після чого мікропланшети витримували протягом 30 хвилин та проводили облік реакції титру активності вірусу в гемаглютинуючих одиницях.

Отримані результати представлені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3.

Вплив розчинника на відновлення вірусного матеріалу після ліофілізації

Зразок	Розчинник		
	Дист. вода	Ф-С буф. розчин	Фізіол. розчин
<i>Hitchner B1</i> + манітол	388	512	478
<i>LaSota</i> + манітол	388	512	478
<i>Hitchner B1</i> + пептон	512	512	512
<i>LaSota</i> + пептон	512	512	512
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	362	512	416
<i>LaSota</i> + ДМСО	362	512	416

Для обох штамів спостерігали однакові результати. Окрім вибору розчинника на відновлення також впливав обраний стабілізатор.

При використанні дистильованої води були отримані різноманітні результати залежно від вибору стабілізатору. Для зразків з манітолом вірусна активність складала після відновлення 388 ГАО, для зразків з диметилсульфодіоксидом у якості розчинника – 362 ГАО.

Для зразків з пептоном незалежно від розчинника вірусна активність складала 512 ГАО. Це пояснюється складом пептону (амінокислоти та пептиди), що дозволяє підтримати осмотичний баланс та підтримати активність вірусних часток, отже забезпечує краще відновлення, незважаючи на використаний розчинник.

Кращий результат був отриманий при використанні фосфатно-сольового розчину, незалежно від стабілізатору титр складав 512 ГАО.

При використанні у якості розчинника фізіологічного розчину титри зразків після відновлення були вищими ніж для дистильованої води, але не такими високими як при використанні фосфатно-сольового буферного розчину, для зразків з стабілізатором манітолом і ДМСО склали 478 і 416 ГАО відповідно.

### **3.3. Вплив співвідношення стабілізатора та вірусомісного матеріалу в ліофілізованих живих вакцинах на властивості препарату**

Під час даного дослідження порівнювали вплив співвідношення стабілізатору до кількості вірусомісного матеріалу на збереження гемаглютинуючих властивостей після ліофілізації та імунну відповідь, викликану вакциною у цільових тварин. Порівнювали такі співвідношення вірусомісного матеріалу та стабілізаторів: 50:50, 60:40 та 70:30.

Активність вірусу визначали за допомогою реакції гемаглютинації (РГА) за стандартною методикою. Використовували 96-луночні мікропланшети, готували двократні розведення дослідних зразків у фосфатно-сольовому буфері від 1:2 до 1:4096. В кожен лунку вносили 1% суспензію еритроцитів півня, після чого мікропланшети витримували протягом 30 хвилин та проводили облік реакції титру активності вірусу в гемаглютинуючих одиницях.

Отримані результати порівняння збереження гемаглютинуючих властивостей представлені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.3.

Вплив співвідношення стабілізатору до кількості вірусовмісного матеріалу на збереження гемаглютинуючих властивостей після ліофілізації

Зразок	Співвідношення		
	50:50	60:40	70:30
<i>Hitchner B1</i> + манітол	478	512	478
<i>LaSota</i> + манітол	478	512	478
<i>Hitchner B1</i> + пептон	478	512	512
<i>LaSota</i> + пептон	478	512	512
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	512	512	416
<i>LaSota</i> + ДМСО	512	512	416

Для обох штамів спостерігали однакові результати.

Незалежно від обраного стабілізатору, при співвідношенні 60:40 вірусна активність препарату склала 512 ГАО.

При використанні у якості стабілізатору манітолу вірусна активність складала 478 ГАО як для більшої концентрації стабілізатору, що пояснюється високим рівнем розбавлення вірусного матеріалу, так і для меншої кількості стабілізатору, адже забезпечується менш високий рівень захисту, відповідно руйнується більша кількість вірусних часток.

Для зразків з пептоном у якості стабілізатору гемаглютинуюча активність також складає 478 ГАО при співвідношенні 50:50, проте, через властивості пептону до підтримки стабільної активності та його склад, при вищих концентрація стабілізатору (70:30) вірусна активність також складає 512 ГАО.

У випадку використання диметилсульфодіоксиду спостерігали зворотню ситуацію, він забезпечує високий рівень захисту навіть при менших концентраціях, проте при меншій кількості вірусного матеріалу вірусна активність препарату складає 416 ГАО.

Зразки вакцини вводили курчатам з дослідних груп підшкірно. У дослідних тварин відбирали зразки крові для проведення серологічних досліджень. Відбір крові здійснювали до введення зразків вакцини, через 7 та 14 днів після вакцинації.

Дослідження сироваток крові на наявність антитіл проти вірусу Ньюкааської хвороби проводили за допомогою реакції затримки гемаглютинації.

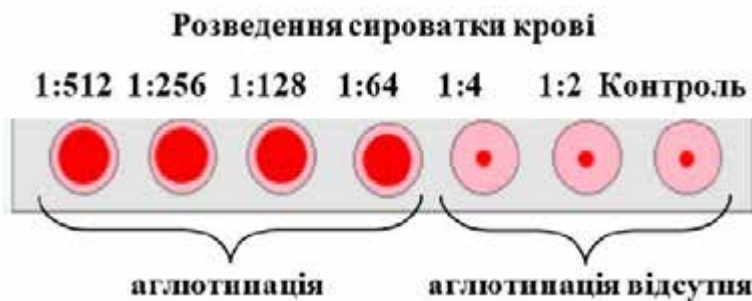


Рис. 3.1. Схематичне зображення результатів реакції затримки гемаглютинації

Результати дослідів представлені в таблицях 3.4 – 3.6.

Таблиця 3.4

Кількість антитіл проти вірусу хвороби Ньюкасла, в сироватці крові дослідних тварин, при співвідношенні вірусного матеріалу і стабілізатору 50:50,  $\log_2$

Зразок	Середній титр антитіл, $\log_2$		
	До вакцинації	Через 7 діб	Через 14 діб
Контроль	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,1
<i>Hitchner B1</i> + манітол	1,8 ± 0,2	7,6 ± 0,3	8,5 ± 0,2
<i>LaSota</i> + манітол	1,9 ± 0,3	7,6 ± 0,1	8,6 ± 0,3
<i>Hitchner B1</i> + пептон	1,9 ± 0,3	7,5 ± 0,2	8,4 ± 0,1
<i>LaSota</i> + пептон	1,8 ± 0,3	7,5 ± 0,1	8,3 ± 0,2
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	2,0 ± 0,2	7,4 ± 0,2	8,3 ± 0,1
<i>LaSota</i> + ДМСО	1,9 ± 0,2	7,5 ± 0,1	8,4 ± 0,2

Початкові рівні антитіл у всіх групах, включаючи контрольну, є дуже близькими — в діапазоні від 1,7 до 2,0  $\log_2$ . Отже, початкова імунна активність у

зразків до введення вакцини схожа, що дозволяє порівнювати імунну відповідь після вакцинації. Через тиждень у вакцинованих групах, спостерігається значний приріст рівня антитіл (в межах 7,4–7,6  $\log_2$ ). Найвищий приріст показали вакцини з манітолом (7,6  $\log_2$  для обох штамів), тоді як ДМСО дає трохи нижчий результат (7,4 для *Hitchner B1* і 7,5 для *LaSota*). Через два тижні після вакцинації рівень антитіл зріс у всіх вакцинованих групах. Групи з вакциною з манітолом показали найвищий рівень антитіл (8,5–8,6  $\log_2$ ), що свідчить про найсильнішу імунну відповідь. Групи з пептоном і ДМСО також мають високий рівень антитіл (8,3–8,4  $\log_2$ ), але трохи нижчий порівняно з манітолом.

Рівень антитіл контрольної групи практично не змінився, що дозволяє виключити спонтанне неіндуковане вакциною утворення антитіл.

Таблиця 3.5

Кількість антитіл проти вірусу хвороби Ньюкасла, в сироватці крові дослідних тварин, при співвідношенні вірусного матеріалу і стабілізатору 60:40,  $\log_2$

Зразок	Середній титр антитіл, $\log_2$		
	До вакцинації	Через 7 діб	Через 14 діб
Контроль	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,1
<i>Hitchner B1</i> + манітол	1,8 ± 0,3	7,9 ± 0,3	8,9 ± 0,2
<i>LaSota</i> + манітол	2,0 ± 0,2	7,9 ± 0,1	8,9 ± 0,2
<i>Hitchner B1</i> + пептон	1,7 ± 0,3	7,8 ± 0,2	8,8 ± 0,3
<i>LaSota</i> + пептон	1,8 ± 0,2	7,8 ± 0,2	8,8 ± 0,3
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	1,9 ± 0,3	7,8 ± 0,3	8,6 ± 0,2
<i>LaSota</i> + ДМСО	1,7 ± 0,2	7,9 ± 0,2	8,6 ± 0,3

Початкові рівні антитіл у всіх групах, включаючи контрольну, є дуже близькими — в діапазоні від 1,7 до 2,0  $\log_2$ . Отже, початкова імунна активність у зразків до введення вакцини схожа, що дозволяє порівнювати імунну відповідь після вакцинації.

Через тиждень у всіх вакцинованих групах з'являється значний приріст антитіл (до 7,8–7,9  $\log_2$ ), тоді як контрольна група залишається на тому ж рівні. Це показує суттєву імунну відповідь через 7 діб після вакцинації. Через 14 діб рівень антитіл у всіх вакцинованих групах досягнув найвищого значення. Зразки з манітолом дали найвищі титри (8,9  $\log_2$ ), що показує найсильніший імунний відгук. Пептон демонструє схожий результат (8,8  $\log_2$ ), але трохи нижчий, а ДМСО має дещо нижчі показники (8,6  $\log_2$ ). Рівень антитіл контрольної групи незмінний.

Таблиця 3.6

Кількість антитіл проти вірусу хвороби Ньюкасла, в сироватці крові дослідних тварин, при співвідношенні вірусного матеріалу і стабілізатору 70:30,  $\log_2$

Зразок	Середній титр антитіл, $\log_2$		
	До вакцинації	Через 7 діб	Через 14 діб
Контроль	1,9 ± 0,2	1,9 ± 0,2	1,9 ± 0,1
<i>Hitchner B1</i> + манітол	1,8 ± 0,2	7,5 ± 0,3	8,6 ± 0,2
<i>LaSota</i> + манітол	2,0 ± 0,3	7,6 ± 0,1	8,5 ± 0,3
<i>Hitchner B1</i> + пептон	1,7 ± 0,2	7,7 ± 0,2	8,7 ± 0,3
<i>LaSota</i> + пептон	1,8 ± 0,3	7,6 ± 0,2	8,7 ± 0,2
<i>Hitchner B1</i> + ДМСО	1,9 ± 0,3	7,8 ± 0,3	8,6 ± 0,3
<i>LaSota</i> + ДМСО	1,7 ± 0,3	7,9 ± 0,2	8,5 ± 0,3

Початкові рівні антитіл у всіх групах, включаючи контрольну, є дуже близькими — в діапазоні від 1,7 до 2,0  $\log_2$ .

Через 7 діб усі вакциновані зразки демонструють зростання рівня антитіл (від 7,5 до 7,9  $\log_2$ ), тоді як контрольна група не показує змін. Через 14 діб у групах з пептоном спостерігається найвищий рівень антитіл (8,7  $\log_2$ ), що свідчить про його високу ефективність у порівнянні з манітолом та ДМСО, які

показують рівень антитіл  $8,6 \log_2$  для *Hitchner B1* і  $8,5 \log_2$  для *LaSota*. Рівень антитіл контрольної групи не змінився.

Відповідно до отриманих результатів, отримали найвищу імунну відповідь ( $8,9 \pm 0,2 \log_2$ ) при використанні зразку, де у якості стабілізатору використаний манітол, співвідношення вірусного матеріалу та стабілізатору 60:40.

## ВИСНОВКИ

1. Оптимізовано технологію виготовлення вакцин: підвищено рівень збереження активності вірусного матеріалу, його відновлення та імунну відповідь цільових тварин.
2. Досліджено збереження гемаглютинуючої активності вірусомісного матеріалу хвороби Ньюкасла при використанні у якості стабілізаторів таких речовин як: манітол, диметилсульфодіоксид (ДМСО) та пептон при різних температурах зберігання: 2 – 8 °С, 10 – 12 °С, 16 – 18 °С, 20 – 25 °С протягом 12 місяців.
3. При використанні манітолу як стабілізатора зберігається найвищий рівень інфекційної активності, порівняно з іншими стабілізаторами у даному дослідженні, протягом 12 місяців при зберіганні за температури 14–18 °С та 20–25 °С.
4. Порівняно вплив розчинників на відновлення вірусного матеріалу після ліофілізації. Визначено, що незалежно від стабілізатору найкраще відновлення забезпечує фосфатно-сольовий буферний розчин, титр після відновлення складав 512 ГАО. Також, виявлено, що при використанні стабілізатору пептон, якість відновлення вірусного матеріалу зберігалась на високому рівні незалежно від розчинника, та складала 512 ГАО.
5. Досліджено вплив співвідношення стабілізатору до кількості вірусомісного матеріалу (співвідношення 30:70, 40:60 та 50:50) на збереження гемаглютинуючих властивостей після ліофілізації та імунну відповідь, викликану вакциною (отримані результати в діапазоні 8,3-8,9 log<sub>2</sub>).
6. Манітол у якості стабілізатору при співвідношенні до вірусного матеріалу 40:60 та при використанні у якості розчинника фосфатно-сольового буферу, забезпечують найкраще збереження активності вірусного матеріалу, його відновлення та імунну відповідь цільових тварин.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ravikumar, R.; Chan, J.; Prabakaran, M. Vaccines against Major Poultry Viral iseases: Strategies to Improve the Breadth and Protective Efficacy. *Viruses* **2022**, *14*, 1195.
2. Hafez, H.M.; Attia, Y.A. Challenges to the Poultry Industry: Current Perspectives and Strategic Future After the COVID-19 Outbreak. *Front. Vet. Sci.* **2020**, *7*, 516.
3. Kulkarni, R.R.; Taha-Abdelaziz, K.; Shojadoost, B.; Astill, J.; Sharif, S. Gastrointestinal Diseases of Poultry: Causes and Nutritional Strategies for Prevention and Control. In *Improving Gut Health in Poultry*; Burleigh Dodds Science Publishing: Cambridge, UK, 2019; pp. 205–236.
4. French, D. Incidence and Economic Impact of Reovirus in the Poultry Industries in the United States. *Avian Dis.* **2022**, *66*, 432–434.
5. Fatoba, A.J.; Adeleke, M.A. Chicken Anemia Virus: A Deadly Pathogen of Poultry. *Acta Virol.* **2019**, *63*, 19–25.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations; Agriculture and Consumer Protection Department. *Poultry Development Review*; FAO: Rome, Italy, 2013; ISBN 9789251080672.
7. USDA Agricultural Projections to 2031, by Erik Dohlman, James Hansen, and David Boussios, ERS, February 2022.
8. Poultry Vaccines Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Attenuated Live Vaccines, Inactivated Vaccines, Recombinant Vaccines), By Disease Type, By Application, By Region, And Segment Forecasts, 2023 - 2030. Report ID: GVR-4-68038-100-9. Number of Report Pages: 150. Format: PDF, Horizon Databook. Historical Range: 2017 - 2021. Forecast Period: 2023 - 2030. Industry: Healthcare.

9. Saleh, A.; Qamar, S.; Tekin, A.; Singh, R.; Kashyap, R. Vaccine Development Throughout History. *Cureus* 2021, 13, e16635.
10. Sanders, B.; Koldijk, M.; Schuitemaker, H. Inactivated Viral Vaccines. In *Vaccine Analysis: Strategies, Principles, and Control*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2015; pp. 45–80.
11. Bhatia, S.S.; Pillai, S.D. Ionizing Radiation Technologies for Vaccine Development—A Mini Review. *Front. Immunol.* 2022, 13, 845514.
12. Seo, H.S. Application of Radiation Technology in Vaccines Development. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2015, 4, 145.
13. Astill, J.; Alkie, T.; Yitbarek, A.; Taha-Abdelaziz, K.; Bavananthasivam, J.; Nagy, É.; Petrik, J.J.; Sharif, S. Examination of the Effects of Virus Inactivation Methods on the Induction of Antibody- and Cell-Mediated Immune Responses against Whole Inactivated H9N2 Avian Influenza Virus Vaccines in Chickens. *Vaccine* 2018, 36, 3908–3916.
14. Begum, R.H.; Rahman, H.; Ahmed, G. Development and Evaluation of Gamma Irradiated Toxoid Vaccine of *Salmonella Enterica* Var Typhimurium. *Vet. Microbiol.* 2011, 153, 191–197.
15. Fetterer, R.H.; Jenkins, M.C.; Miska, K.B.; Barfield, R.C. Evaluation of an Experimental Irradiated Oocyst Vaccine to Protect Broiler Chicks Against Avian Coccidiosis. *Avian Dis.* 2014, 58, 391–397.
16. El-Ashram, S.A.; Aboelhadid, S.M.; Gadelhaq, S.M.; Arafa, W.M.; Abdel-Razik, A.-R.H.; Abohamra, S.; Abdelaziz, K.T. Oral Inoculation of Ultraviolet-Irradiated *Eimeria* Species Oocysts Protects Chickens against Coccidiosis. *Parasitol. Res.* 2019, 118, 3173–3183.
17. Greenwood, J. D. "Molecular vaccines." *Journal of Clinical Pathology*, vol. 56, no. 10, pp. 784-789, 2003. DOI: 10.1136/jcp.56.10.784

18. Richard B. Ford and Gregory F. Langford, "Veterinary Vaccinology" Wiley-Blackwell, 2019.
19. Cox, M. M. (2012). Recombinant protein vaccines produced in insect cells. *Vaccine*, 30(10), 1759-1766. doi: 10.1016/j.vaccine.2011.09.130
20. Sharma, J.M., Kim, I.J., Rautenschlein, S., Yoon, K.J. (Eds.) *Advances in Poultry Vaccines*. Springer, 2021.
21. Velayutham, R., Venkatesan, G., Halami, M.Y. Recombinant Newcastle disease virus (rNDV) as a vaccine vector for poultry viral diseases. *Virusdisease*. 2020; 31(1): 12-20.
22. Cardoso, F.M.C.; Petrovajová, D.; Horňáková, T. Viral Vaccine Stabilizers: Status and Trends. *Acta Virol*. 2017, 61, 231–239.
23. Bert Rima, Anne Balkema-Buschmann, William G. Dundon, Paul Duprex, Andrew Easton, Ron Fouchier, Gael Kurath, Robert Lamb, Benhur Lee, Paul Rota, Linfa Wang, and ICTV Report Consortium, 2019, ICTV Virus Taxonomy Profile: Paramyxoviridae, *Journal of General Virology* (2019), 100:1593–1594
24. Hines, N. L., & Miller, C. L. (2012). Avian paramyxovirus serotype-1: A review of disease distribution, clinical symptoms, and laboratory diagnostics. *Veterinary Medicine International*, 2012, Article ID 708216. <https://doi.org/10.1155/2012/708216>
25. Hines, N. L., & Miller, C. L. (2012). Avian paramyxovirus serotype-1: a review of disease distribution, clinical symptoms, and laboratory diagnostics. *Veterinary medicine international*, 2012, 708216. <https://doi.org/10.1155/2012/708216>
26. Kapczynski, D. R., Afonso, C. L., & Miller, P. J. (2013). Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental and comparative immunology*, 41(3), 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.04.012>
27. Dimitrov, K. M., Ramey, A. M., Qiu, X., Bahl, J., & Afonso, C. L. (2016). Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1

- (Newcastle disease virus). *Infection, Genetics and Evolution*, 39, 22-34. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.01.008>
28. Miller PJ, Haddas R, Simanov L, et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infect Genet Evol*. 2015 Oct;29:216-229. doi: 10.1016/j.meegid.2014.11.029. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25481292.
29. Liu, Y., Zhang, J., Wu, S., Huang, J., & Zhang, Y. (2020). Efficacy of disinfectants against avian paramyxovirus type 1 on different materials. *Poultry Science*, 99(6), 2928-2936. doi: 10.1016/j.psj.2020.02.008
30. Wenjun Xie, Sherry Ayers, Jody Edwards, Yang Liu, Amanda Jimenez, and Mark W. Jackwood. Thermal inactivation kinetics of avian paramyxovirus type 1. *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 83, Issue 1, January 2017, e02292-16, DOI: 10.1128/AEM.02292-16.
31. Міністерство аграрної політики та продовольства України. (17 жовтня 2011). Наказ № 548 Про затвердження Інструкції з профілактики та ліквідації захворювання птиці на хворобу Ньюкасла. Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 9 листопада 2011 р. за N 1279/20017.
32. Голубнича, В. М., Погорєлов, М. В., & Корнієнко, В. В. (2016). Біобезпека та біозахист у біологічних лабораторіях 1-го та 2-го рівнів біобезпеки (1-е вид.). Суми: Сумський державний університет.
33. Cardoso, Capitã Cíntia & Petrovajova, Dana & Hornakova, Tekla. (2017). Viral vaccine stabilizers: Status and trends. *Acta virologica*. 231-239. 10.4149/av\_2017\_301.
34. Інструкція з серологічного контролю рівня антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби птиці в реакції затримки гемаглютинації. - К.: Держпродспоживслужба України, 2010. - 23 с., п. 2.7

35. Інструкція з серологічного контролю рівня антитіл до вірусу ньюкаслської хвороби птиці в реакції затримки гемаглютинації. - К.: Держпродспоживслужба України, 2010. - 23 с., п. 2.6
36. Sarkar, J., Sreenivasa, B. P., Singh, R. P., Dhar, P., & Bandyopadhyay, S. K. (2003). Comparative efficacy of various chemical stabilizers on the thermostability of a live-attenuated peste des petits ruminants (PPR) vaccine. *Vaccine*, 21(32), 4728–4735. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(03\)00512-7](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(03)00512-7)
37. Franks, F. (1993). *Freeze-Drying: From Theory to Practice*. Cambridge University Press.
38. Rey, L., & May, J. C. (2010). *Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. CRC Press.
39. Wang, W. (2000). Lyophilization and Development of Solid Protein Pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 203(1-2), 1-60.
40. "Poultry Vaccines Market Size, Share & Trends Analysis Report By Technology (Inactivated, Live Attenuated, Toxoid, Recombinant), By Disease Type (Infectious Bronchitis, Avian Influenza), And Segment Forecasts, 2019 - 2026"
41. "Poultry Vaccines Market: Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast, 2020-2030" - Transparency Market Research, 2020
42. Державна служба статистики України. (2020). Про соціально-економічне становище України (І. Є. Вернер, Ред.; О. А. Вишневська, Відповідальний за випуск). Державна служба статистики України. <http://www.ukrstat.gov.ua>
43. The Business Research Company. (2023). *Poultry Global Market Report 2023* (ID:5781135).
44. Rappuoli, R., & Mandl, C. W. (2017). Polyvalent vaccines: a review of developments and perspectives. *Journal of vaccine research*, 4(1), 23-32. doi: 10.17554/j.issn.2409-9389.2017.04.05

45. Маврутенков В.В., Ревенко Г.О., «Вакцинопрофілактика: досягнення проблеми і перспективи розвитку», Медичні перспективи, т. XXI, 2016.
46. Liu, Y., Zhang, J., Wu, S., Huang, J., & Zhang, Y. (2020). Efficacy of disinfectants against avian paramyxovirus type 1 on different materials. *Poultry Science*, 99(6), 2928-2936. doi: 10.1016/j.psj.2020.02.008
47. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищих мед. навч. закладів / за ред. В.П.Широбокова. – 3-тє вид., оновл. та допов. – Вінниця : Нова Книга, 2021. – 920 с.
48. Pascolo, S. (2008). Synthetic messenger RNA-based vaccines: from scorn to hype. *Viral Immunology*, 21(3), 379-385. doi: 10.1089/vim.2008.0025
49. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. – Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009
50. Dimitrov, K. M., Afonso, C. L., Yu, Q., & Miller, P. J. (2017). Newcastle disease vaccines—A solved problem or a continuous challenge? *Veterinary Microbiology*, 206, 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.05.002>
51. OIE. (2021). Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health. <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/>
52. Alexander, D. J. (2000). Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 19(2), 443-462. <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1234>
53. Miller, P. J., & Koch, G. (2013). Newcastle disease. In D. E. Swayne (Ed.), *Diseases of poultry* (13th ed., pp. 89-138). Wiley-Blackwell.

54. Alders, R. G., & Spradbrow, P. B. (2018). Controlling Newcastle Disease in Village Chickens: A Field Manual. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
55. Lee, C. W., & Suarez, D. L. (2004). Avian influenza virus: prospects for prevention and control by vaccination. *Animal health research reviews*, 205-213.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ



ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ ТА ЕКОЛОГІЇ

**ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ В ЗАХИСТІ ТА КАРАНТИНІ  
РОСЛИН**

*Матеріали III Всеукраїнської науково-практичної конференції  
здобувачів вищої освіти, присвяченій 126-річчю НУБіП України*

*(23 квітня 2024 р.)*



**Київ-2024**

Фітопаразитичні нематоди трьох енергетичних культур для виробництва біопалива. <i>Луцюк А. С., Стефановська Т. Р.</i> .....	230
Особливості стерилізації вихідного матеріалу <i>Salvia officinalis</i> для введення в культуру in vitro. <i>Майданович Н.Р., Лобова О.В.</i> .....	232
Особливості методів стерилізації тюльпану для введення в умови in vitro. <i>Матвісіко А.О., Лобова О.В.</i> .....	235
Особливості дії біологічних препаратів при вирощуванні <i>Glycine max</i> L. <i>Маценко Я. С., Бородай В. В.</i> .....	237
Морфогенез та розмноження in vitro <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. <i>Моргун Є.Є., Кляченко О.Л.</i> .....	239
Застосування регуляторів росту стимуло та регоплант у вирощуванні рослини міскантусу. <i>Остапенко К.В., Медков А.І., Бородай В.В., Стефановська Т.Р.</i> .....	241
Постсептична адаптація рослин регенерантів in vitro туї західної. <i>Павленко Ю.С., Коломіць Ю.В.</i> .....	242
Біологічно активні компоненти та мінеральні солі як ключові фактори в рості та використанні грибів <i>Pleurotus ostreatus</i> Kumm. <i>Пигичко Р.О., Бойко О.А.</i> .....	244
Підбір живильногосередовища для одержання калюсу непентесу чудового ( <i>Nepenthes mirabilis</i> ) в умовах in vitro. <i>Пула В.С., Коломіць Ю.В.</i> .....	246
Стратегії застосування культивування <i>Daucus carota</i> in vitro для підвищення біорезистентності та виробництва корисних біопродуктів. <i>Самолук А. А., Коломіць Ю. В.</i> .....	248
Вплив вуглецевих наноматеріалів на фізіологічні показники та структуру коренів сільськогосподарських рослин. <i>Северін С.М., Ткаченко Т.А.</i> .....	250
Мікроклональне розмноження змієголовника молдавського ( <i>Dracocephalum moldavica</i> L.). <i>Сипченко О. Ю., Лобова О. В.</i> .....	252
Вплив біологічних активних речовин грибів роду <i>Daedaleopsis j.Schröt.</i> на ріст і розвиток овочевих культур. <i>Сірик А.Є., Бойко О. А.</i> .....	254
Ефективність комплексного застосування біопрепаратів в технології вирощування сої. <i>Словінський В.В., Бородай В.В.</i> .....	255
Оцінка препарату на основі с6-hsl (п-гексаноїл-гомосеринлактон) для адаптації живців картоплі in vitro. <i>Царуліца О., Лісовий М.М.</i> .....	257
Введення <i>Pulsatilla alba</i> в культуру in vitro. <i>Швець В. В., Лобова О.В.</i> .....	259
Ксилотрофні базидієві гриби та їх використання в моніторингу екосистем. <i>Швець Д.О., Бойко О.А.</i> .....	261
Оптимізація біотехнології виробництва вакцини для птахівництва. <i>Шевченко А.В., Бородай В.В.</i> .....	262
Дослідження біосенсорного детектування мікотоксинів в різних матрицях. <i>Шкарбан П.О., Таран О.П.</i> .....	264
Отримання та використання полісахаридів гливи звичайної ( <i>Pleurotus ostreatus</i> Kumm.) Для росту і розвитку зернобобових культур <i>Шмигаль П.А., Бойко О.А.</i> .....	266
Отримання та використання полісахаридів гливи звичайної ( <i>Pleurotus ostreatus</i> Kumm.) Для росту і розвитку зернобобових культур. <i>Шмигаль П.А., Бойко О.А.</i> .....	267

1. Бублик Я. Ксилотрофні дискоміцети (Ascomycota) лісових екосистем національного природного парку "Сколівські Бескиди". Вісник Львівського університету. Львів, 2016. С. 117-125.

2. Шундель М., Велигодська А. Видовий склад ксилотрофних базидієвих грибів лісових насаджень Шаргородського району Вінницької області. Матеріали наук. конф. проф. – викл. складу, наук. праці, і здобувач. наук. ступеня, м. Вінниця, 2019. С. 59-60.

3. Блінкова О., Іваненко О. Коадаптивна система деревних рослин та ксилотрофних грибів як біоіндикація стану лісів Київського Полісся та Київської височинної області. Питання біоіндикації та екології. 2014. № 19, 2. С. 14–32.

**УДК 632.937.16**

### **ОПТИМІЗАЦІЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИН ДЛЯ ПТАХІВНИЦТВА**

*Шевченко А.В.*, магістр 1-го року навчання,

Науковий керівник: *Бородай В.В.*, доктор с.-г. наук,

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*e-mail: asyashkevch@gmail*

Виробництво вакцин для птахівництва є важливою складовою птахівницької промисловості, оскільки воно сприяє збереженню здоров'я птахів та забезпеченню продуктивності у цій галузі. Вакцини для птахів використовуються для захисту від різних патогенів, таких як віруси, бактерії та паразити, які можуть спричинити захворювання та втрати у птахівництві. З моменту винайдення перших вакцин і до сьогодення технології виробництва вакцин зазнали значних змін та оптимізацій, що сприяло підвищенню їх ефективності та безпеки.

Процес виробництва вакцин для птахів складається з декількох етапів, включаючи вибір відповідних антигенів, їхню очистку та стабілізацію, формулювання вакцини, а також контроль якості та безпеки продукції [1]. Використання передових технологій, таких як біотехнологія та генетична інженерія, дозволяє покращити ефективність та якість виробництва вакцин, забезпечуючи швидку реакцію на нові виклики та загрози для птахівного стада.

Одним із ключових аспектів оптимізації виробництва вакцин є використання новітніх методів культивування вірусів. Технології, що базуються на клітинних культурах, замість традиційних методів культивування на пташках або в бройлерних яйцях, дозволяють отримувати вакцини більшої чистоти та консистентності. Використання біореакторів і

біохемічних систем дозволяє підтримувати оптимальні умови для росту вірусів, забезпечуючи високий вихід продукту та мінімальний ризик забруднення.

Ад'юванти грають важливу роль у підвищенні імунної відповіді на вакцини. Оптимізація технології виробництва вакцин полягає в модифікації складу ад'ювантів для забезпечення кращої стимуляції імунної системи птахів. Це може включати в себе використання нових компонентів, які підвищують ефективність ад'ювантів, або впровадження технологій мікроенкапсуляції для контрольованого та поступового вивільнення ад'ювантів у тканини птахів[2].

Молекулярно-генетичні методи стали важливим інструментом у виробництві вакцин для птахівництва. Вони дозволяють швидко розробляти та впроваджувати нові вакцини, спрямовані на певні штами вірусів або бактерій, забезпечуючи більшу специфічність та ефективність. Технології, такі як рекомбінантна ДНК, можуть бути використані для виробництва вакцин, що містять лише вибрані антигени, що знижує ризик небажаних побічних ефектів.

Автоматизація та інтеграція процесів виробництва вакцин дозволяє підвищити ефективність та знизити витрати. Впровадження роботизованих систем у всіх етапах виробництва, від культивування вірусів до фасування готових вакцин, дозволяє зменшити ризик помилок та забруднення, а також збільшує швидкість виробництва [3].

Отже, оптимізація технології виробництва вакцин для птахівництва є важливим завданням, спрямованим на забезпечення високої якості та ефективності вакцин, які використовуються для захисту птахів від різних інфекційних захворювань. Використання новітніх технологій у культивуванні вірусів, модифікації ад'ювантів, молекулярно-генетичних методів та автоматизації процесів дозволяє підвищити продуктивність та безпеку виробництва, що в свою чергу сприяє збереженню здоров'я птахів та підвищенню рентабельності птахівницького господарства.

#### **Список використаної літератури:**

1. Маврутенков В.В., Ревенко Г.О. Вакцинопрофілактика: досягнення проблеми і перспективи розвитку, Медичні перспективи, т. XXI, 2016.

2. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищих мед. навч. закладів / за ред. В.П.Широбокова. 3-тє вид., оновл. та допов. Вінниця : Нова Книга, 2021. 920 с.

3. Abdelaziz, Khaled, Yosra A. Helmy, Alexander Yitbarek, Douglas C. Hodgins, Tamer A. Sharafeldin, and Mohamed S. H. Selim. 2024. "Advances in Poultry Vaccines: Leveraging Biotechnology for Improving Vaccine Development, Stability, and Delivery" *Vaccines* 12, no. 2: 134. <https://doi.org/10.3390/vaccines12020134>



**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ  
І ЕКОЛОГІЇ**

## **ЗБІРНИК**

матеріалів доповідей

**X МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ  
КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ, АСПРАНТІВ**

**І МОЛОДИХ ВЧЕНИХ**



**«ЕКОЛОГІЯ – ФІЛОСОФІЯ ІСНУВАННЯ  
ЛЮДСТВА»**

**24-25 квітня 2024 р.**

<i>Хлопчур О.О., Боголюбов В.М.</i> <b>АКТУАЛЬНІСТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ ОСВІТИ В ШКОЛЯРІВ. ВИЗНАЧЕННЯ РОЗМІРУ ВИБІРКИ ДЛЯ ОПИТУВАННЯ.....</b>	283
<i>Царуліца О.Р., Лісовий М.М.</i> <b>ОЦІНКА ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ C6-HSL (N-ГЕКСАНОЇЛ-ГОМОСЕРИНЛАКТОН) ДЛЯ АДАПТАЦІЇ ЖИВЦІВ КАРТОПЛІ <i>IN VITRO</i>.....</b>	285
<i>Шаран Т.В., Павлюк С.Д.</i> <b>ВПЛИВ АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ НА ЯКІСТЬ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ ДАРНИЦЬКОГО РАЙОНУ МІСТА КИЄВА.....</b>	287
<i>Швець В.В., Лобова О.В.</i> <b>ВВЕДЕННЯ <i>PULSATILLA ALBA</i> В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i>.....</b>	289
<i>Швець Д.О., Бойко О.А.</i> <b>ХАРАКТЕРИСТИКА КСИЛОТРОФНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ В МОНИТОРИНГУ ЕКОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ.....</b>	291
<i>Швець І.В., Березінська Я.Л.</i> <b>НЕГАТИВНІ ЗМІНИ В НАВКОЛИШНЬОМУ СЕРЕДОВИЩІ В ЗВ'ЯЗКУ З ВІЙСЬКОВИМ ВТОРГНЕННЯМ РОСІЇ В УКРАЇНУ.....</b>	292
<i>Швець-Машкара А.С., Строкаль В.П.</i> <b>БАСЕЙН РІЧКИ ДЕСНА: АНАЛІЗ ДАНИХ З ВИЗНАЧЕННЯ ТОЧКОВИХ ТА ДИФУЗНИХ ДЖЕРЕЛ ЗАБРУДНЕННЯ.....</b>	294
<i>Шевченко А.В., Бородай В.В.</i> <b>ЕКОЛОГІЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИН ДЛЯ ПТАХІВНИЦТВА.....</b>	296
<i>Шеремет А.М., Діденко І.А.</i> <b>ОСОБЛИВОСТІ ВТОРИННОЇ ПЕРЕРОБКИ ЕЛЕКТРОННИХ ВІДХОДІВ.....</b>	298
<i>Шкарбан П.О., Таран О.П.</i> <b>ДОСЛІДЖЕННЯ БІОСЕНСОРНОГО ДЕТЕКТУВАННЯ МІКОТОКСИНІВ В РІЗНИХ МАТРИЦЯХ.....</b>	300
<i>Шмальова М., Лісовий М.М.</i> <b>СКРИНІНГ ШТАМІВ <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> З ВИСОКОЮ ЕНТОМОЦИДНОЮ АКТИВНІСТЮ.....</b>	302
<i>Шмиголь П.А., Бойко О.А.</i> <b>ОТРИМАННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІСАХАРИДІВ ГЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ (<i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> KUMM.) ДЛЯ РОСТУ І РОЗВИТКУ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР.....</b>	304
<i>Шовківська К.В., Сальнікова А.В.</i> <b>АНАЛІЗ АНТРОПОГЕННОГО ВПЛИВУ НА ЕКОЛОГІЧНИЙ СТАН КИЇВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА ПОБЛИЗУ СЕЛА ЛЮТІЖ У ВИШГОРОДСЬКОМУ РАЙОНІ.....</b>	306
<i>Яцишина Ю.П., Міняйло А.А.</i> <b>ЕКОЛОГІЧНІ ЗБИТКИ ЗАВДАНІ ДОВКІЛЛЮ В НАСЛІДОК РУЙНАЦІЇ ДАМБИ ПІВНІЧНОКРИМСЬКОГО КАНАЛУ.....</b>	308

дифузного забруднення природних вод басейну р. Десна [3]; активне добування піску, що негативно впливає на морфологію річки [1], чим самим є одним із чинників що сприяють дифузному забрудненню річки (надходження поживних речовин із розорених с.г. земель, тваринницьких комплексів тощо).

#### Список використаних джерел:

1. План управління річковим басейном Дніпра 2025-2030 (проект). Грудень 2023. Державне агентство водних ресурсів України. URL: <https://davr.gov.ua/plan-upravlinnya-richkovim-basejnom-dnipra>
2. Річки України. Річка Десна. URL: <https://river.land.kiev.ua/desna.html>
3. Строкаль В.П., Ковпак А.В. Екологічний стан природних вод суббасейну Верхнього Дніпра та Десни: показники якості води і можливі причини їх погіршення // Науковий журнал «Біологічні системи: теорія та інновації». – Київ: Видавничий центр НУБіП України, Том 12, № 2, 2021. – С. 24-40. DOI: <http://dx.doi.org/10.31548/biologiya2021.02.003>

УДК 632.937.16

### ЕКОЛОГІЧНІ ПЕРСПЕКТИВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИН ДЛЯ ПТАХІВНИЦТВА

*Шевченко А.В.*, магістр першого року навчання, факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

*Бородай В.В.*, доктор с.-г. наук, доцент кафедри кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

У сучасних умовах виробництво вакцин для птахівництва є важливою ланкою для забезпечення здоров'я та продуктивності стада. Однак, у зв'язку з ростом світового попиту на птахівницькі продукти, виникає потреба у пошуку та впровадженні екологічно-орієнтованих підходів до виробництва вакцин з метою забезпечення сталого розвитку галузі.

Біотехнологія відкриває широкі можливості для розробки та виробництва вакцин для птахівництва. Одним із ключових напрямків використання біотехнології є генетична інженерія, яка дозволяє створювати вакцини, які ефективно захищають птахів від різних захворювань. Застосування рекомбінантних ДНК-технологій дозволяє отримати вакцини з високим ступенем чистоти та безпеки.

Використання біотехнології для виробництва вакцин для птахівництва має значні екологічні переваги. Однією з них є зменшення використання хімічних пестицидів та

антибіотиків у вирощуванні птахів. Вакцинація птахів дозволяє запобігати захворюванням без необхідності використання агресивних хімікатів, що може спричинити забруднення довкілля та здоров'я тварин [1].

Використання екологічно чистих матеріалів та процесів у виробництві вакцин є ключовим аспектом зменшення негативного впливу на довкілля.

При розробці технології виробництва вакцин для птахів важливо використовувати екологічно чисті матеріали та реагенти. Використання біорозкладних пакувальних матеріалів та хімікатів, які не мають негативного впливу на навколишнє середовище, сприяє зменшенню відходів та забруднення довкілля.

При цьому, важливо враховувати не лише сам процес виробництва, але й його вплив на екосистему під час всього життєвого циклу продукції [2].

Енергоефективність стає однією з важливих стратегій для зменшення викидів та споживання енергії в процесі виробництва. Використання відновлюваних джерел енергії та впровадження енергозберігаючих технологій сприяє створенню екологічно чистих виробничих процесів.

Мінімізація відходів та їх подальша переробка є необхідним етапом для зменшення негативного впливу виробництва на довкілля. Застосування стратегій мінімізації відходів та їхньої подальшої вторинної переробки є ключовим для екологічної оптимізації виробництва вакцин для птахів. Використання методів вторинної переробки та переробки відходів дозволяє зменшити негативний вплив на довкілля та створює можливість для створення замкнутого циклу у виробництві.

Управління водними ресурсами є ще однією важливою складовою екологічної оптимізації виробництва вакцин. Використання технологій з очищення та використання відновлених водних ресурсів дозволяє зменшити водоспоживання та забруднення водою.

Використання біотехнології для оптимізації виробництва вакцин для птахівництва є важливим і перспективним напрямком досліджень. Це дозволяє забезпечити високий рівень захисту птахів від захворювань, зменшуючи при цьому негативний вплив на екологію та здоров'я тварин [3]. Подальші дослідження та інновації в цій області можуть привести до ще більшого покращення ефективності та безпеки виробництва вакцин для птахівництва.

Вищезазначені підходи до оптимізації технології виробництва вакцин для птахівництва з екологічної перспективи є важливими для створення сталої та екологічно безпечної галузі птахівництва. Розвиток та впровадження екологічно чистих технологій дозволить забезпечити збереження природних ресурсів для майбутніх поколінь.

#### Список використаних джерел:

1. Марченко, О.П., Ковальов, О.В. Сучасні тенденції виробництва вакцин для птахівництва в Україні. Ветеринарна біотехнологія, 2018.
2. World Health Organization (WHO). Biotechnology and Vaccine Production: A Guide to the Literature and Its Review. Geneva, WHO, 2018.
3. Smith, L. Biotechnology in the Production of Poultry Vaccines: Current Trends and Future Perspectives. Journal of Applied Poultry Research, 2020.

УДК 621.398.9:502/504

#### ОСОБЛИВОСТІ ВТОРИННОЇ ПЕРЕРОБКИ ЕЛЕКТРОННИХ ВІДХОДІВ

*Шермет А.М.*, студентка 3 курсу факультету економіки і менеджменту

*Діденко І.А.*, к.с.-г.н., доцент кафедри екології та ландшафтного дизайну

*ПВНЗ «Європейський університет»*

Електронні відходи (е-відходи) – це одна з найшвидше зростаючих проблем забруднення навколишнього середовища у світі. Переробка вторинних електронних відходів стає нагальною проблемою, оскільки вони швидко зростають у світі та містять небезпечні речовини, такі як свинець, ртуть і кадмій. Якщо їх не утилізувати належним чином, це може завдати шкоди здоров'ю людей та довкіллю. Процес вторинної переробки е-відходів полягає у вилученні цінних матеріалів з електронних пристроїв для повторного використання, що допомагає зменшити кількість відходів на звалищах та зберегти природні ресурси [1, 6].

Ефективність цього процесу залежить від типу електронного пристрою та використаних технологій. Мобільні телефони та комп'ютери переробляються найефективніше, оскільки з них можна видобути цінні матеріали, такі як золото, мідь, алюміній та пластик. Однак електронні пристрої, як от телевізори та монітори, можуть бути складнішими у переробці через наявність небезпечних речовин, наприклад, ртуті. Видалення цих речовин перед переробкою інших матеріалів ускладнює процес та робить його фінансово затратним [3].

Переробка е-відходів має численні екологічні переваги, включаючи зменшення кількості відходів на звалищах та мінімізацію викидів небезпечних речовин у навколишнє середовище. Виробництво нових електронних пристроїв потребує значних енергетичних ресурсів та призводить до викидів парникових газів. Вторинна переробка е-відходів може сприяти зменшенню споживаної енергії для виробництва нових пристроїв, що в свою чергу призводить до зменшення викидів парникових газів.



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**



**ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ ТА ЕКОЛОГІЇ  
КАФЕДРА ЕКОБІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОРИЗНОМАНІТТЯ**

**X ВСЕУКРАЇНСЬКА НАУКОВО-  
ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ  
СТУДЕНТІВ, АСПІРАНТІВ ТА МОЛОДИХ  
ВЧЕНИХ «БІОТЕХНОЛОГІЯ:  
ЗВЕРШЕННЯ ТА НАДІЇ»**

**2-3 травня 2024 р.**

**м.Київ**



<b>Самолук А. А., Коломісць Ю. В.</b> Особливості культивування <i>Daucus carota in vitro</i> для підвищення біорезистентності та виробництва корисних біопродуктів.....	62
<b>Савицька Л. В., Нестерова Н. Г.</b> Використання рослин роду <i>Fagaceae</i> в озелененні міст.....	63
<b>Северін С.М., Ткаченко Т.А.</b> Перспективні напрямки використання вуглецевих наноматеріалів у сільському господарстві.....	65
<b>Сідорович Є.А., Нестерова Н.Г.</b> Аспекти впливу засолення ґрунту за дії б-бап на фізіологічні показники рослини кукурудзи <i>Zea mays</i> L. ....	67
<b>Сірик А.Є., Бойко О.А.</b> Вплив біологічних активних речовин грибів роду <i>Daedaleopsis</i> J.Schröt. на ріст і розвиток овочевих культур.....	
<b>Сипченко О.Ю., Лобова О.В.</b> Мікроклональне розмноження Змієголовника молдавського ( <i>Dracocephalum moldavica</i> L.) .....	69
<b>Словінський В.В., Бородай В.В.</b> Ефективність комплексного застосування біопрепаратів в технології вирощування сої.....	70
<b>Сокол Д. О., Дрозд П. Ю.</b> Моніторинг впливу інвазивних чужорідних видів на біорізноманіття водних екосистем.....	71
<b>Хоменко Д.С., Лісовий М.М.</b> Пробіотичні штами лакто- та біфідобактерій.....	73
<b>Хомюк М.П., Кваско О.Ю.</b> Особливості калусогенезу рослин монарди лимонної ( <i>Monarda citriodora</i> Cerv. ex Lag.) .....	74
<b>Швець Д. О., Бойко О. А.</b> Характеристика ксилотрофних базидієвих грибів та їх використання в моніторингу екологічних систем.....	76
<b>Шевченко А.В.</b> Оптимізація біотехнології виробництва вакцини для птахівництва.....	76
<b>Шкарбан П.О., Таран О.П.</b> Дослідження біосенсорного детектування мікотоксинів в різних матрицях.....	78
<b>Шляхтун І.С., Кляченко О.Л.</b> Морфологічна різноманітність калусних тканин Лаванди вузьколистої ( <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.) .....	79

УДК 574.2:582.287

**Швець Д. О., Бойко О. А.**

**ХАРАКТЕРИСТИКА КСИЛОТРОФНИХ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ  
В МОНІТОРИНГУ ЕКОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України вул. Героїв Оборони,  
15, м. Київ, 03041, Україна  
e-mail: dimaneloxdada@gmail.com*

Ксилотрофні базидієві гриби – це види грибів, які живуть на деревині та можуть розкладати целюлозу та лігнін, роблячи їх важливими учасниками екосистем. Вони є спеціалізованою групою грибів, що виділяються за своєю здатністю жити на живій або мертвій деревині. Цей субстрат для ксилотрофів може бути як єдиним можливим так і додатковим. Дослідження ксилотрофних макроміцетів деревних насаджень дозволяє спеціалізованим структурам вчасно виявляти осередки небезпечних грибних хвороб різноманітних порід дерев, розробляти заходи боротьби з ними та зберігати лісові насадження у здоровому стані.

Метою роботи було визначення та аналіз видового складу ксилотрофних базидієвих грибів лісових насаджень за допомогою методів спостереження, порівняльних методів та моніторингу. Матеріалом дослідження були плодові тіла цих грибів, які були знайдені на деревах та рослинних залишках лісових насаджень, і вони були ідентифіковані за загальноприйнятими методиками систематики грибів.

Використання ксилотрофних базидієвих грибів для моніторингу екосистем має ряд переваг, оскільки вони володіють підвищеною чутливістю до змін довкілля, такі як забруднення повітря, зміни клімату, порушення лісового покриву. Також вагомою перевагою є те що ця група грибів зустрічається у всьому світі, у різних типах лісів. Не можна не відмітити легкість у зборі та їх ідентифікації, що робить їх дуже зручними для моніторингу. І насамперед через велике різноманіття видів цих грибів, кожен з них має свої екологічні особливості, що дозволяє використовувати різні види ксилотрофів для моніторингу різних факторів довкілля.

**Список використаних джерел:**

1. Бублик Я. Ксилотрофні дискоміцети (Ascomycota) лісових екосистем національного природного парку "Сколівські Бескиди". *Вісник Львівського університету*. Львів, 2016. С. 117-125.
2. Шундель М., Велигодська А. Видовий склад ксилотрофних базидієвих грибів лісових насаджень Шаргородського району Вінницької області. *Матеріали наук. конф. проф. – викл. складу, наук. праць, і здобувач. наук. ступеня, м. Вінниця, 2019. С. 59-60.*
3. Блінкова О., Іваненко О. Кoadаптивна система деревних рослин та ксилотрофних грибів як біоіндикація стану лісів Київського Полісся та Київської височинної області. *Питання біоіндикації та екології*. 2014. № 19, 2. С. 14–32.

УДК 632.937

**Шевченко А.В.**

**ОПТИМІЗАЦІЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ВАКЦИН ДЛЯ  
ПТАХІВНИЦТВА**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна  
asyashevch@gmail.com*

Птахівництво є однією з найважливіших галузей сільського господарства, яка забезпечує люду м'ясом, яйцями та іншими продуктами. Проте, ця галузь зазнає значних втрат через інфекційні захворювання птаці. Вакцинація є одним з найефективніших методів профілактики та контролю цих захворювань [2].

**Актуальність:**

Розробка та виробництво ефективних і безпечних вакцин для птахівництва є важливою науковою та практичною проблемою. Сучасною тенденцією в боротьбі з вірулентною інфекцією є розробка вакцини, відповідних за генотипом, на основі ізолятів вірусу хвороби, які зараз циркулюють. Дані вакцини є більш ефективними не тільки в профілактиці захворювань, але й у блокуванні реплікації та виділення вірулентного вірусу після зараження [1]. Тож, розробка ефективних вакцин є одним з найважливіших завдань сучасної біотехнології.

**Методи оптимізації:**

Існує ряд методів оптимізації біотехнології виробництва вакцин для птахівництва, включаючи:

- **Використання рекомбінантної ДНК-технології:** Цей метод дозволяє отримувати вірусні білки, які є антигенами, без вирощування вірусів у клітинних культурах. Це значно знижує вартість і час виробництва вакцини, а також підвищує їхню чистоту та безпеку.

- **Використання інактивованих вакцин:** Цей тип вакцин містить лише фрагменти вірусних білків, які необхідні для стимуляції імунної відповіді. Це робить вакцини більш безпечними та менш реактогенними, а також дозволяє використовувати їх для імунізації молодих птахів.

- **Використання векторних вакцин:** Цей тип вакцин використовує вірус-носії, який не викликає захворювання у птахів, для доставки вірусних білків до імунних клітин. Векторні вакцини можуть бути більш імуногенними, ніж традиційні вакцини, і можуть використовуватися для імунізації проти декількох захворювань одночасно.

- **Використання ад'ювантів:** Ад'юванти - це речовини, які додаються до вакцин для посилення імунної відповіді. Використання ад'ювантів може зробити вакцини більш ефективними і дозволити використовувати менші дози антигенів [3; 4].

При виробництві інактивованих вакцин одним з найважливіших завдань є підбір інактивантів та ад'ювантів. Завдяки правильно підібраним складовим можна значно підвищити ефективність та безпечність препарату, а також збільшити термін зберігання. Наприклад, згідно проведеного дослідження,  $\beta$ -пропіолактон забезпечує кращу збереженість титру вірусного матеріалу, не знижуючи при цьому рівня інактивації порівняно з водним розчином формальдегіду. Суміш мінерального масла з аеросилом А-300 виявилася більш доцільним ад'ювантом, адже вона стимулює сильнішу імунну відповідь. Готовий ад'ювант Montanide ISA 70, хоча й скорочує кількість технологічних операцій та тривалість процесу, забезпечує нижчий рівень імунної відповіді та є економічно не вигідним через високу вартість.

**Переваги оптимізації:**

Оптимізація біотехнології виробництва вакцин для птахівництва має ряд переваг, включаючи:

1. Зниження вартості виробництва вакцин;
2. Скорочення часу виробництва вакцин;
3. Підвищення імуногенності вакцин;
4. Зниження реактогенності вакцин;
5. Можливість імунізації молодих птахів;
6. Можливість імунізації проти декількох захворювань одночасно;
7. Покращення здоров'я птахів;
8. Зниження втрат від інфекційних захворювань;
9. Збільшення продуктивності птахівництва [3; 4].

**Висновки:**

Оптимізація технології виробництва вакцин для птахівництва є важливим завданням, спрямованим на забезпечення високої якості та ефективності вакцин, які використовуються для захисту птахів від різних інфекційних захворювань. Використання новітніх технологій у

культивуванні вірусів, модифікації ад'ювантів, молекулярно-генетичних методів та автоматизації процесів дозволяє підвищити продуктивність та безпеку виробництва, що в свою чергу сприяє збереженню здоров'я птахів та підвищенню рентабельності птахівницького господарства.

#### Список використаної літератури

1. Марченко, О. П., Ковальов, О. В. Сучасні тенденції виробництва вакцин для птахівництва в Україні. Ветеринарна біотехнологія, 2018.
2. World Health Organization (WHO). Biotechnology and Vaccine Production: A Guide to the Literature and Its Review. Geneva, WHO, 2018.
3. Abdelaziz, Khaled, Yosra A. Helmy, Alexander Yitbarek, Douglas C. Hodgins, Tamer A. Sharafeldin, and Mohamed S. H. Selim. 2024. "Advances in Poultry Vaccines: Leveraging Biotechnology for Improving Vaccine Development, Stability, and Delivery" *Vaccines* 12, no. 2: 134. <https://doi.org/10.3390/vaccines12020134>
4. Smith, L. Biotechnology in the Production of Poultry Vaccines: Current Trends and Future Perspectives. *Journal of Applied Poultry Research*, 2020.

УДК 579.2:614.31

**Шкарбан П.О., Таран О.П.**

#### ДОСЛІДЖЕННЯ БІОСЕНСОРНОГО ДЕТЕКТУВАННЯ МІКОТОКСИНІВ В РІЗНИХ МАТРИЦЯХ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

Біосенсори викликають значний інтерес як у дослідників, так і у виробників різноманітної сільськогосподарської продукції, оскільки завжди є потреба в експресному детектуванні небезпечних речовин, які можуть забруднювати продукти і корми. Розробка сенсорів на основі поверхневого плазмонного резонансу для взаємодії з аналітами у складних рідинних середовищах, таких як гетерогенні харчові матриці, є складною задачею. Для досягнення високої селективності та специфічності взаємодії з аналітами, важливо використовувати методи та матеріали, які забезпечують точність та надійність детектування. Це може включати оптимізацію хімічного складу поверхні сенсора, модифікацію наноструктур для підвищення специфічності взаємодії, а також розробку спеціальних методів обробки сигналу для аналізу складних рідинних зразків. Додатковою важливою аспектом є стабільність і відтворюваність вимірювань у реальних умовах, оскільки це впливає на точність та надійність сенсорної системи. Такі фактори, як стійкість до факторів навколишнього середовища, довготривала стабільність роботи та можливість автоматизації процесів, також важливі для успішної розробки сенсорів на основі для складних рідинних матриць, таких як харчові продукти [1].

Плісневі гриби можуть становити серйозну загрозу для різних видів сільськогосподарських культур та продовольчої продукції. Вони можуть поширюватися і вражати такі продукти, як злаки, горіхи, спеції, сухофрукти, яблука та кавові боби, серед іншого. Умови, сприятливі для їхнього розвитку, можуть виникати під час зберігання, транспортування або обробки сільськогосподарської продукції. Наявність плісняви може призвести до зниження якості продуктів, втрати врожаю та забруднення продуктів токсичними метаболітами, такими як мікотоксини. Мікотоксини – це токсичні речовини, які продукуються деякими видами грибів (мікотоксигенних грибів) і можуть знаходитися у харчових продуктах, кормах і в інших матеріалах. Ці речовини можуть бути небезпечними для здоров'я людини і тварин, навіть у невеликих концентраціях, тому їх рівні суворо регулюються законодавством. Оскільки вони можуть бути небезпечними для здоров'я, багато країн мають обмеження на допустимі рівні мікотоксинів у харчових продуктах та кормах [2].

Контроль за мікотоксинами зазвичай здійснюється шляхом виявлення і аналізу цих речовин у зразках харчових продуктів та кормів за допомогою різних аналітичних методів,