

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРОТИВ ПНЕВМОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Пархомеко Л.И., Дубин Р.А., Германенко М.Н.

Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск, Украина

Введение цыплятам-бройлерам живой вакцины против метапневмовируса на фоне новых производных 1,2,4 – триазола способствовало повышению уровня антител на $1 \log_2 - 1,6 \log_2$ через 14 дней после вакцинации по результатам иммуноферментного анализа. В реакции иммунодиффузии в агаровом геле установлено повышение данного показателя на $1,0 - 2,0 \log_2$ соответственно с группами РАПК – 60 и АИ – 1. Выявлена корреляционная связь между уровнем поствакцинальных антител в иммуноферментном анализе и реакции иммунодиффузии в агаровом геле.

The introduction of broiler chickens live vaccine against the new metapneumovirus of derivatives 1,2,4 – triazole enhanced the level of antibodies to $\log_2 - 1,6 \log_2$ 14 days after vaccination, the results of Enzyme Linked Immunosorbent Assay. In the reaction of Agar gel immunodiffusion is set to increase this figure $1,0 - 2,0 \log_2$ respectively with groups RAPC – 60 and AI – 1. Correlation between the level of post-vaccination antibody established in Agar gel immunodiffusion, Enzyme Linked and Immunosorbent Assay.

Ключевые слова: метапневмовирус птиц, производные 1,2,4 – триазола, реакция иммунодиффузии в агаровом геле, иммуноферментный анализ.

Keywords: Avian pneumoviruses, derivatives 1,2,4 – triazole, Agar gel immunodiffusion, Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

Введение. Иммуносупрессия, обусловленная пневмовирусом, увеличивает восприимчивость птиц к заболеваниям и приводит к снижению способности птиц отвечать на вакцинацию [8].

Механизм иммуносупрессии при метапневмовирусной инфекции (МПВИ) сходен с таковым при других вирусных болезнях птиц, когда в процесс вовлечены макрофаги, способные секретировать растворимые факторы, ингибирующие размножение Т-клеток [9].

К метапневмовирусу (МПВ) уровень антител нарастает медленно, по сравнению с другими вирусами, вызывающими респираторные заболевания, особенно у цыплят [10].

Выявление антител к МПВ птиц после вакцинации осуществляется методом иммуноферментного анализа (ИФА). Одновременно с этим разработана тест-система для определения уровня антител к МПВ в реакции непрямой гемагглютинации, данные которой коррелируют с результатами ИФА [2].

Снижение иммуносупрессивного действия МПВ как полевых, так и вакцинных штаммов, обеспечивает иммунокоррекция различными иммуномодуляторами. Известна иммуномодулирующая активность Лозеваля, широко используемого в птицеводстве [3, 4].

Дементьева В.А. и др. (2007) указывают на положительное влияние фоспренила на уровень и длительность протективного гуморального иммунитета при введении цыплятам в 1-дневном возрасте. Под действием препарата значительно повышается уровень интерферона, что является одним из основных механизмов иммуномодулирующего действия [1].

Патняк Д.П. и др., (2002) использовали в качестве иммуномодулятора S 28828, который является мощным индуктором цитокинов, для повышения эффективности вакцинации индюшат против МПВ. Использование S 28828 снижает патогенность, но сохраняет иммуногенность ослабленных вакцин [5].

Соединения 1,2,4 – триазола являются перспективными для повышения иммуногенности вакцин. Цель исследования – коррекция иммунитета производными 1,2,4 – триазола (РАПК – 60 и АИ – 1) при вакцинации цыплят-бройлеров против МПВ.

Материалы и методы исследований. Для выявления способности соединений триазолинового ряда к повышению уровня поствакцинальных антител против МПВ птицы сформировали 3 группы цыплят-бройлеров, возрастом 25 дней по 5 голов. Цыплятам I и II группы 3 дня подряд до вакцинации вводили соединение РАПК – 60 и АИ – 1 в виде 1 % раствора, в дозе 1 см^3 , внутримышечно. III группа цыплят служила вакцинированным контролем, без введения соединений триазолинового ряда. В работе использовали: живую вакцину Хиправиар, штамм 1062, подтип В; соединение РАПК – 60 (морфолиний 2 – (5 – (4 пиридил) – 4 – (2 метоксифенил) – 1,2,4-триазол – 3 илтио) ацетат; соединение АИ – 1 – пипиридиний 2 – (5 – (пиридил – 4 ил) – 1,2,4 – триазол – 3 – илтио) ацетат; кроличью гипериммунную сыворотку к полемому изоляту МПВ PV–3 с титром $7 \log_2$; полевой изолят МПВ PV–3.

Серологический контроль осуществляли в ИФА и реакции иммунодиффузии в агаровом геле (РИД). Иммуноферментный анализ проводили с использованием диагностического оборудования Biocheck. Отрицательным результатом считали титр $1:1158 (7,0 \log_2)$, сомнительным – $1:1159 - 1:1655 (7,0 \log_2 - 7,4 \log_2)$, положительным – $1:1656 (7,4 \log_2)$ и выше. Постановку реакции РИД проводили по общепринятым методам.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с помощью программы STATISTICA 7,0 (Stat Soft, USA).

Результаты исследований. Фоновые значения титра антител к МПВ у цыплят-бройлеров 25-суточного возраста по результатам ИФА составляли $3,4 \pm 0,23 \log_2$, а МПВ – $1,6 \pm 0,89 \log_2$. Разделение на группы перед вакцинацией против МПВ проводили без учета высоты титра материнских антител.

Производные 1,2,4 – триазола, введенные в течение 3 – х дней по 1 мл, внутримышечно в виде 1 %, раствора не оказывали негативного влияния на клиническое состояние цыплят.

Вакцинация 28-суточных цыплят живой вакциной против МПВ на фоне введенных соединений обусловила прирост антител, контроль титра которых в ИФА и РИД имел положительную корреляционную связь. Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Титр антител к метапневмовирусу в сыворотке крови вакцинированных цыплят в различных реакциях, $\bar{X} \pm S \bar{X}$ (n=5)

Показатели	Фоновые показатели антител	Группы цыплят		
		1	2	3
		РАПК – 60	АИ – 1	контроль
Возраст, дней	25	47	47	47
титр антител, log ₂				
ИФА	3,4±0,23***	12,8±0,17***	11,2±0,62***	10,2±0,46***
РИД	1,6±0,89	4±0,63***	3±0,24***	2±0,48
r ²	0,47	0,87	0,83	0,53

*Примечание: r² – коэффициент корреляции; ***P < 0,001 достоверность ИФА по отношению к ИФА, **P < 0,001 РАПК – 60, АИ – 1 и контроля к фоновым показателям, ****P < 0,001 контроль РИД с РАПК – 60 и АИ – 1.*

У цыплят I и II групп титр антител в обеих реакциях был выше вакцинированной контрольной группы. Наивысший титр антител в ИФА регистрировали у цыплят I группы, которым вводили соединение РАПК – 60, что на 2,6 log₂ (P < 0,001) выше от контрольной группы и на 1,6 log₂ от группы цыплят, стимулированных соединением АИ – 1 (P < 0,001). По сравнению с фоновыми значениями титр антител в контрольной группе достоверно повысился на 6,8 log₂ (P < 0,001), в I группе на 9,8 log₂, а во II – на 7,8 log₂. Контроль напряженности иммунитета с использованием РИД также показал наивысший титр антител в I группе, который был на 2 log₂ выше от контрольной группы и на 1 log₂ – от II группы цыплят. По сравнению с фоновым уровнем антител в РИД контрольная группа вакцинированных цыплят имела антитела выше только на 0,4 log₂, а в I и II группах выше на 2,4 log₂ и 1,4 log₂ (P < 0,001) соответственно.

Результаты исследований. Способность новых производных 1,2,4 – триазола РАПК – 60 и АИ – 1 повышать напряженность поствакцинального иммунитета к МПВ птицы расширяет спектр биологически активных веществ, которые могут быть рекомендованы для птицеводства. Результаты наших исследований согласуются с данными Онищука Ф. Д. и др., (2004) по использованию препарата Лозеваль (Изатизон), действующим веществом которого является также производное 1,2,4 – триазола – (морфолоний (2 – (4 – хлорфеноксиметил) – 3,3 диметил – 1 – (1,2,4 – триазол – 1 – ил) – 2 – бутанол). Выявленная нами положительная корреляционная связь между титром антител к МПВ в ИФА и РИД подтверждает возможность применения РИД для оценки уровня поствакцинальных антител. Данный метод применили Gough R. E. (1989), Brown P. и др., (2008) для индикации, идентификации МПВ при разработке и контроле тест-системы ИФА [6, 7].

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о способности производных 1,2,4 – триазола стимулировать выработку специфических к МПВ антител. При этом соединение РАПК – 60 обладает более высокой стимулирующей активностью и может быть использовано в схеме вакцинации цыплят против МПВ.

Литература. 1. Неспецифическая профилактика респираторных болезней птиц, при аэрозольном применении Фоспренила / В. А. Дементьева [и др.] // Ветеринария – 2007. – № 12. – С. 16 – 17. 2. Порівняльна оцінка діагностичної цінності серологічних методів (РНГА, ІФА) контролю метапневмовірусної інфекції птиці / Л. І. Наливайко, О. В. Циновий, Д. В. Рябека [та ін.] // Науково – технічний бюлетень – Львів. – 2012 – Вип. 13., № 3–4 – С. 380 – 384. 3. Онищук Ф. Д. Эффективность использования нового препарата Лозеваль в ветеринарии / Ф. Д. Онищук // Фундаментальные исследования. – 2004. – №4. – С. 54 – 55. 4. Таймасуков А. А. Фармакология и применение лозевалья в птицеводстве: автореф. дис. на соискание степени канд. вет. наук: спец. 16.00.04 ветеринарная фармакология с токсикологией. / А. А. Таймасуков – Краснодар. – 2003. – 20 с. 5. Effect of an immunomodulator on the efficacy of an attenuated vaccine against avian pneumovirus in turkeys / D. P. Patnayak, S. Rautenschlein, A. M. Sheikh [et al.] // Avian Diseases. – 2002. – Vol. 46. – N 3. – P. 555 – 561. 6. Towards the development of novel ELISAs for avium pneumovirus (APV) serology / P. Brown, E. Ricchizzi [et al.] // V international symposium on avian corona – and pneumoviruses and complicating pathogens – Germany. – 2006. – P. 48 – 55. 7. Gough R. E. Antigenic relationships of three turkey rhinotracheitis viruses / R. E. Gough, M. S. Collins // Avian Pathol. – 1989. – Vol. 18. – P. 227 – 238. 8. Gough R. E. Avian Pneumovirus / R. E. Gough // Avian Diseases. – 2004. – Vol. 32. – P. 92 – 99. 9. Interaction between live avian pneumovirus and Newcastle disease virus vaccines in specific pathogen free chickens / K. Ganapathy, P. Cargill, E. Montiel [et al.] // Avian Pathology. – 2005. – Vol. 34. – N 4 – P. 297 – 302. 10. Pertile T. L. Suppressor macrophages mediate depressed lymphoproliferation in chickens infected with avian reovirus / T. L. Pertile, K. Karaca, M. M. Walser // Veterinary Immunology and Immunopathology. – 1996. – Vol. 53. – N 1. – P. 129 – 145.