

7. Сняжков, М.П. Трихонематидозы лошадей и меры борьбы с ними / М.П. Сняжков: Автореф. дис. ... к-та вет. наук. – Мн., 2005. – 16 с. 8. Справочник по разведению и болезням лошадей / А.И. Ятусевич, С.С. Абрамов, А.А. Лазовский и др. – М.: РЕАЛ-А, 2002. – С. 3-5.

Статья поступила 1.10.2010г.

УДК 619: [615.37: 616.98:578.831.1]:636.5

## ДИНАМИКА ТИТРА ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В КРОВИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИММУНОСТИМУЛЯТОРА

Сосновская Т.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Иммуностимулятор изамбен способствует выработке более качественного иммунного ответа на введение вакцины против болезни Ньюкасла.*

*The Immune stimulant Izamben contributes to production of more efficient immune response to the introduction of a vaccine against the Newcastle disease.*

**Введение.** Жизнеспособность и устойчивость организма цыплят к заболеваниям различной этиологии в значительной мере зависит от состояния иммунной реактивности, обеспечивающей устойчивость цыплят во внешней среде. Способность иммунной системы у цыплят отвечать на антигенную стимуляцию полностью развивается лишь спустя определенное время после вывода. Для защиты молодого организма в период созревания иммунной системы ему передаются материнские антитела, которые создают пассивный иммунитет. Основную массу иммуноглобулинов цыпленка получают с яйцом. При этом уровень иммуноглобулинов в снесенном курицей яйце в несколько раз выше, чем в крови. Полученные цыплятами материнские иммуноглобулины представляют собой антитела к антигенам, встречающимся в окружающей среде и возникающим эндогенно, а также к антигенам, которыми иммунизировались матери [1, 4].

Одним из важнейших механизмов адаптации организма к действию веществ антигенной природы и проявлением гомеостаза являются иммунные реакции. Однако, вследствие действия на организм птицы многочисленных факторов внешней среды (физических, химических, технологических, биологических и др.) изменяется иммунный статус организма. Вследствие изменения иммунного ответа, значительно снижается эффективность применения вакцин, увеличивается восприимчивость организма птицы к действию микробов, вирусов и других агентов. Этим объясняется необходимость усиления иммунных процессов.

Для современного птицеводства инфекционные заболевания представляют серьезную опасность. Одной из наиболее опасных, массовых, трудно поддающихся контролю инфекционных болезней птиц является болезнь Ньюкасла. С 1970 года в период наивысшего развития птицеводства эта болезнь приняла угрожающие размеры во многих странах мира. Интенсивная работа по повышению продуктивности привела к снижению естественной резистентности птицы, которая стала реагировать на малейшие изменения условий содержания и кормления.

В практических условиях часто приходится сталкиваться с выраженным иммунодефицитным состоянием животных. Подобные ситуации приводят к искажению динамики вакцинного процесса, в результате чего значительная часть животных не приобретает соответствующего иммунного статуса. Кроме того, генетически обусловленная неспособность к иммунному ответу, а также дефицит иммунокомпетентных клеток являются фактором, предрасполагающим к возникновению целого ряда заболеваний.

Управление иммунологическим состоянием и разработка методов иммунизации на основе использования веществ, обладающих иммуностимулирующей активностью - одна из первостепенных задач науки и практики, решение которой открывает новые пути к более эффективной профилактике многих заболеваний.

Проблема создания полноценного иммунного статуса организма и индукция специфической невосприимчивости путем активной или пассивной иммунизации, может решаться с помощью создания препаратов и разработки методов иммунизации на основе использования веществ, обладающих иммуностимулирующей активностью [5].

Специфическая профилактика инфекционных заболеваний должна осуществляться совместно с фармакологической, т.е. с использованием препаратов, повышающих иммунологическую реактивность организма и обеспечивать выработку напряженного иммунитета [7].

В последние годы уделяется большое внимание проблеме создания и применения в животноводческой и птицеводческой практике препаратов, направленно воздействующих на иммунную систему. Но пока число этих средств, применяемых в ветеринарии невелико.

Данных о влиянии изамбена, как средства стимулирующего естественную резистентность и иммунную реактивность цыплят пород яичного направления нет, что подтверждает актуальность изучения действия препарата в выбранном направлении.

**Материал и методы.** Клинико-экспериментальная часть работы по изучению влияния изамбена на организм цыплят пород яичного направления с целью повышения резистентности, активизации иммунного ответа на вакцину, введенную против болезни Ньюкасла, стимуляции роста и развития их, проведена в клинике кафедры эпизоотологии, лабораториях кафедр внутренних незаразных болезней животных, фармакологии и токсикологии Витебской государственной академии ветеринарной медицины.

Изамбен относится к физиологически активным веществам. Синтез препарата состоит из двух стадий, прост в исполнении, технологичен, не требует создания специальных установок, дорогостоящего оборудования и реактивов.

Изамбен (Izambenum) относится к амидам изоникотиновой кислоты и представляет собой N- метил-4-бензил карбамидопиридиний йодид,  $C_{14}H_{15}IN_2O$ , м.м. 354,19. Препарат представляет собой ярко-желтый или желтый с оранжевым оттенком кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Растворим в воде (допускается мутность), мало растворим в 95% спирте, практически не растворим в хлороформе

Исследования, проведенные научно-исследовательской лабораторией фармакологии и токсикологии опытной станции мясного скотоводства Украинской сельскохозяйственной академии в объеме требований Ветбиофармкомиссии, показали, что изамбен обладает выраженным противовоспалительным, анальгетическим и жаропонижающим действием. Препарат оказывает антиоксидантное и нормализующее энергетический обмен в очаге воспаления действие, ослабляет сосудистую реакцию путем взаимодействия с медиаторами воспаления. Препарат способствует нормализации пищеварения, повышению неспецифической резистентности и сокращению сроков выздоровления животных.

Изамбен совместим с противомикробными лекарственными средствами (антибиотиками, сульфаниламидами, нитрофуранами и препаратами из лекарственных растений) [2].

Изамбен может быть отнесен к числу веществ с умеренной токсичностью ( $LD_{50}$  его при внутривенном введении крысам составляет 110 мг/кг, при пероральном - 2230 мг/кг). У животных не выявлено особенностей в видовой и возрастной чувствительности к изамбену.

Элиминация препарата из организма происходит через шесть суток после прекращения его перорального применения.

В опытах на 140 одно - 42-суточных цыплятах кросса «Беларусь – 9», разделенных на 7 групп по 20 в каждой проводили оценку иммунного ответа их организма на вакцину против болезни Ньюкасла в условиях эксперимента. Учитывали уровень показателей, характеризующих естественную резистентность и иммунологическую реактивность организма птицы. Действие препарата испытывали в зависимости от возраста цыплят, дозы и кратности применения. Цыплятам первой и второй групп препарат в форме 0,5% раствора на 0,85% растворе натрия хлорида задавали индивидуально внутрь однократно в суточном возрасте в дозах соответственно 20 и 40 мг/кг живой массы. Цыплятам третьей и четвертой групп - первый раз в суточном возрасте, повторно - непосредственно перед вакцинацией (в 21-дневном возрасте) в тех же дозах. Цыплятам пятой и шестой групп препарат задавали однократно - непосредственно перед вакцинацией в аналогичных дозах. Цыплята седьмой группы служили контролем и препарат не получали.

Птица всех групп была вакцинирована на 22 день жизни (интраназально, вирус-вакциной против болезни Ньюкасла, штамм «БОР-74 ВГНКИ»). За цыплятами наблюдали в течение всего опыта, учитывали рост, развитие, сохранность.

Для проведения гематологических и иммунологических исследований убивали по пять цыплят из каждой группы в день вакцинации, а также на седьмой, четырнадцатый и двадцать первый дни после иммунизации.

Отбор проб крови проводили от пяти цыплят каждой группы путем декапитации, собирая ее в две стерильные пробирки. В одной из них кровь стабилизировали гепарином (2,0 - 2,5 ЕД/мл), другую использовали для получения сыворотки.

При болезни Ньюкасла, существует прямая корреляция между титром антител и напряженностью иммунитета.

Контроль за динамикой уровня поствакцинальных антител осуществлялся посредством постановки РЗГА.

Для ее постановки использовали сыворотку крови цыплят, вирус – антиген (вирус – вакцину), 1% взвесь эритроцитов петуха, плексиглазовые пластинки с лунками. В реакции использовали рабочее разведение антигена, содержащее в 0, 25 мл 4 гемагглютинирующие единицы (ГАЕ). Перед постановкой реакции сыворотки освобождали от термолабильных ингибиторов путем прогревания в водяной бане при  $56^{\circ}$  в течение 30 минут. РЗГА ставили в два этапа:

- титрация антигена в РГА для определения рабочей дозы вируса;
- постановка основной реакции.

Сначала готовили разведения антигена от 1: 2 до 1: 4096. Для этого во все лунки плексиглазовых пластин наливали изотонический раствор в объеме 0,25 мл. Затем в первую вносили 0,25 мл вируса, новой пипеткой трехкратно пипетировали и переносили 0, 25 мл смеси во 2 лунку и т.д. до получения требуемого разведения. Параллельно ставили контроль эритроцитов на спонтанную агглютинацию, контроль рабочей дозы антигена (4ГАЕ); сыворотки крови цыплят испытывали на возможную несовместимость с эритроцитами петуха.

РЗГА ставили при комнатной температуре и учитывали в течение 20 – 45 минут. При наличии в сыворотке антител наступала задержка гемагглютинации, эритроциты выпадали в осадок в виде пуговки с ровными краями. Расчеты вели по разведению 1: 8.

Работу по изучению сравнительной иммуностимулирующей эффективности изамбена и тимогена проводили в условиях производства - птицефабрики совхоза «Гвардия» Борисовского района, на кафедре фармакологии и токсикологии Витебской государственной академии ветеринарной медицины.

В опытах использовали 9000 цыплят суточного возраста, кросса «Беларусь -9» живой массой 40 - 41 грамм. На протяжении опыта все цыплята находились в аналогичных условиях содержания и кормления, соответствующих зоотехническим нормам.

Все цыплята в начале опыта были разделены на 3 группы по 3000 голов в каждой. Цыплята первой группы служили контролем. Цыплятам второй группы применяли тимоген аэрозольно из расчета  $200 \text{ мкг/м}^3$  с экспозицией в 30 минут. В третьей группе цыплятам скармливали изамбен с кормом в дозе 20 мг/кг живой массы.

На 20 день опыта цыплят всех групп подвергали аэрозольной вакцинации против болезни Ньюкасла сухой вирус-вакциной из штамма «Бор- 74 ВГНКИ» согласно наставлению.

Титры антител в РЗГА определяли на 10-ый и 20-ый дни после вакцинации против болезни Ньюкаса.

На протяжении всего опыта за всеми цыплятами проводили тщательное клиническое наблюдение. Всякие изменения в клиническом состоянии и поведении птицы регистрировали.

**Результаты исследований.** Сразу после выхода из яйца и в первые сутки жизни цыпленка имеют низкий уровень естественной резистентности [6]. По мере распада поступивших трансвариальных антител их уровень снижается в течение 2 – 3 недель, и под воздействием усиливающейся антигенной стимуляции организма молодняка происходит постепенное созревание иммунной системы клеточного и гуморального типа [6, 3]. Это нашло подтверждение в наших опытах. В условиях эксперимента было установлено, что титр антител к вирусу болезни Ньюкасла у цыплят суточного возраста составлял  $4,0 \pm 0,447 \log_2$ . К 21 дню исследований титр антител снизился по сравнению с данными, полученными по этому показателю в суточном возрасте, и находился в пределах от  $0,6 \pm 0,245 \log_2$  до  $1,4 \pm 0,51 \log_2$ .

Важным свойством иммуностимуляторов является способность их активизировать развитие поствакцинального иммунитета.

Так к 27 дню исследований значительно и достоверно возросла величина титра антител к вирусу болезни Ньюкасла во всех подопытных группах и находилась в пределах от  $4,0 \pm 0 \log_2$ ,  $P > 0,05$  (1-ая группа) до  $4,6 \pm 0,245 \log_2$ ,  $P < 0,01$  (2-ая, 4-ая группы). В контрольной группе птицы уровень этого показателя составил  $2,8 \pm 0,374 \log_2$ .

К 34 дню наблюдений происходил дальнейший рост титра гемагглютинирующих антител к вирусу болезни Ньюкасла в РЗГА. Самым высоким этот показатель был у цыплят 2-ой ( $7,4 \pm 0,245 \log_2$ ,  $P < 0,001$ ) и 5-ой ( $7,0 \pm 0,837 \log_2$ ,  $P < 0,01$ ) групп. В контроле -  $4,0 \pm 0,447 \log_2$ .

Рост титра гемагглютинирующих антител к вирусу болезни Ньюкасла в РТГА произошел и к 41 дню опыта в 1-ой, 4-ой и 6-ой группах. Во 2-ой, 3-ей и 5-ой группах регистрировали его снижение. В группе контроля он остался на прежнем уровне. Самым высоким этот показатель был у цыплят 1-ой группы -  $7,6 \pm 0,245 \log_2$ . В контроле -  $4,0 \pm 0,316 \log_2$ .

Кроме этого вакцинация птицы вызвала закономерное увеличение в крови уровня иммуноглобулинов, относящихся к классу А в ответ на введение антигена, увеличение уровня Ig M, способных образовывать прочные комплексы с его молекулой.

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови цыплят подопытных групп было выше чем у контрольной группы птицы во все периоды наблюдения. Причем, повышение содержания иммуноглобулинов классов А и G регистрировали на протяжении всего опыта. Уровень иммуноглобулинов М у цыплят подопытных групп резко возрос к 27 дню жизни. К 34 дню наблюдали спад в их содержании. У цыплят контрольной группы повышение содержания иммуноглобулинов М происходило до 34 дня жизни. К 41 дню показатели по Ig M во всех группах достигли данных 21 дня жизни.

Усиление иммунного ответа организма цыплят при использовании данного препарата подтверждалось также увеличением количества плазматических клеток в 1,5 - 2,8 раза.

Аналогичные данные получены нами и в условиях производства.

Мы установили, что уже на десятый день после вакцинации у цыплят второй и третьей групп вырабатывался иммунитет. Минимальный титр гемагглютинирующих антител регистрировали на уровне  $3,0 \pm 0,05 \log_2$ . Максимальные титры антител в сыворотках регистрировали у цыплят третьей группы на уровне  $4,6 \pm 0,245 \log_2$ , в то время, как в сыворотке крови цыплят контрольной группы минимальный титр был на уровне  $2,0 \pm 0,25 \log_2$ , а максимальный -  $2,8 \pm 0,37 \log_2$ .

К 20-му дню после вакцинации минимальный титр антител в сыворотках крови подопытных цыплят составлял  $5,0 \pm 0,25 \log_2$  во второй группе и  $7,4 \pm 0,374 \log_2$  - в третьей группе, а максимальный  $8,5 \pm 0,10 \log_2$  - в обеих группах. В то время как у цыплят контрольной группы максимальный уровень титра антител не поднялся выше  $4,2 \pm 0,35 \log_2$ , а минимальный оставался на уровне  $3,01 \pm 0,15 \log_2$ .

Через месяц после иммунизации минимальные титры антител в сыворотках крови подопытных цыплят составляли:  $6,05 \pm 0,05 \log_2$  во второй группе и  $7,35 \pm 0,37 \log_2$  - в третьей, а максимальный не поднялся выше  $8,00 \pm 0,05 \log_2$ . У цыплят контрольной группы максимальные титры не поднялись выше уровня  $5,07 \pm 0,03 \log_2$ .

Гораздо более высокие титры антител в сыворотке крови подопытных цыплят свидетельствуют о выработке более качественного иммунного ответа под влиянием примененного препарата.

**Заключение.** Вакцинация цыплят против болезни Ньюкасла на фоне применения иммуностимулятора изамбена, обеспечивает формирование у иммунизированной птицы более напряженного иммунитета, что выражается повышением в крови птицы титров поствакцинальных антител к вирусу болезни Ньюкасла в 1,3 – 1,9 раза. Изамбен в сравнении с тимогеном проявляет более выраженный иммуностимулирующий эффект.

**Литература.** 1. Болотников, И.А. Иммунопрофилактика инфекционных болезней птиц /И.А.Болотников. - Москва: Россельхозиздат, 1982. - 183 с. 2. Бурдейный, В.В. Изамбен - новый препарат при острых желудочно-кишечных заболеваниях телят и поросят-сосунов /В.В. Бурдейный, В.Ф. Даниленко, Т.А. Бухтиярова. // Новые фармакологические средства в ветеринарии: Тез. докл. к 5-ой межгос. межвуз. науч.- практич. конф. / КНИИФ и Т.- СПб., 1993. - С. 8. 3. Карпуть, И.М. Энтеробифидин в профилактике диарейных болезней и нитратных токсикозов /И.М. Карпуть, И.З. Северюк, Ю.Г. Зелютков и др. // Вопросы теории и практики ветеринарии и зоотехнии: Сб. науч. трудов Витебского ветеринарного института. - Минск: Ураджай, 1992. - Т. 29. - С. 89-93. 4. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка /И.М.Карпуть.- Минск: Ураджай, 1993. - 288 с. 5. Коромыслов, Г.Ф. Иммуностимуляция: средства, методы, перспективы /Г.Ф. Коромыслов, П.Е.Игнатов // Сельскохозяйственная биология.- 1983.- № 7.- С. 99-107. 6. Михайлова, С.А. Возрастные особенности формирования иммунной резистентности у цыплят-бройлеров /С.А.Михайлова, Н.В. Кленина, В.С. Антонов // Ветеринария.- Киев: Ураджай, 1987.- Вып. 62.- С. 11-14. 7. Ракова, Т.Н. Совершенствование фармакопрофилактики заболеваний цыплят-бройлеров на крупных птицефабриках /Т.Н.Ракова //Фармакологические средства в ветеринарии: Тез. докл. к 5-ой межгос., межвуз. науч.- практич. конф. /КНИИФ и Т.- СПб., 1993. - С. 23.

Статья поступила 28.09.2010г.