

И.А. Борисова

АНТИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ И ПНЕВМОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПТИЦ

Введение

Ньюкаслская болезнь и пневмовирусная инфекция относятся к числу опасных вирусных заболеваний птиц в промышленном птицеводстве.

Ньюкаслская болезнь (НБ) — особо опасная вирусная инфекция птиц, характеризующаяся пневмонией, энцефалитом, множественными кровоизлияниями и поражениями внутренних органов. Мировой опыт борьбы с НБ свидетельствует о том, что добиться значительного снижения заболеваемости птиц при помощи одних общих ветеринарно-санитарных мероприятий трудно вследствие постоянной угрозы заноса инфекции из сопредельных стран и широко распространенного вирусоносительства.

Поэтому вакцинопрофилактика является единственным безотказным фактором контроля вирусных болезней, эффективным и универсальным практически в любых условиях, от современного животноводства до примитивного хозяйства в странах с различным уровнем экономического развития и организации ветеринарно-санитарного обслуживания. Ньюкаслская болезнь зарегистрирована на всех континентах (кроме стран Океании) и наносит большой экономический ущерб.

Пневмовирусная инфекция птиц — высококонтагиозное вирусное заболевание, характеризуется респираторными нарушениями (чихание, хрипы, назальные выделения), опуханием инфраорбитальных синусов, общим угнетением и снижением яйценоскости [4]. Наиболее подвержены заболеванию индейки. У кур наблюдаются схожие клинические признаки, но они обычно менее выражены. Тяжесть заболевания и характер его клинического проявления усугубляются при плохом микроклимате и заражении вторичными инфекциями [3, 7].

В России заболевание регистрируется на протяжении нескольких последних лет (1995–2005 гг.). Отмечены случаи возникновения пневмовирусной инфекции на пти-

цефабриках Волгоградской, Ярославской, Тульской и других областей РФ [2]. Эффективной мерой профилактики и борьбы с пневмовирусом птиц является применение эффективных живых и инактивированных вакцин.

Для специфической профилактики пневмовирусной инфекции птиц и ньюкаслской болезни разработаны и применяются моновалентные инактивированные вакцины, однако для предотвращения распространения обеих инфекций была разработана инактивированная эмульсионная вакцина против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц.

Материалы и методы

Антигенные компоненты. В составе вакцины использовали следующие антигены:

- инактивированный вирус ньюкаслской болезни - производственный штамм “Ла-Сота” (инфекционная активность до инактивации $10,1 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{мл}$, титр в РГА — $9 \log_2$);

- инактивированный пневмовирус подгруппы В, полученный в культуре клеток Vero (инфекционная активность до инактивации $6,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$).

Инактивацию вирусов проводили димером аминоэтилэтиленмина в конечной концентрации 0,3% при температуре +20–22° С в течение 24 часов.

Адьювант. Использовали масляный адьювант Монтанид ИЗА 70 фирмы SEP-PIС (Франция).

Изготовление вакцины. Антигенные компоненты смешивали в равных количествах. Полученную смесь объединяли с масляным адьювантом в соотношении 30:70 и эмульгировали в гомогенизаторе Silverson 450 LS при температуре от 4 до 12° С в течение 150 мин, получая эмульсию обратного типа («вода/масло»).

Цыплята. В опыте использовали цыплят яичной породы Хайсекс коричневый в возрасте 50 суток, серонегативных к возбудителям ньюкаслской болезни и пневмови-

русной инфекции птиц.

Определение антигенной активности.

Формировали 3 группы цыплят по 10 голов в каждой. Птиц первой группы прививали экспериментальным образцом инактивированной эмульсионной вакцины против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц однократно в грудную мышцу в объеме $0,5 \text{ см}^3$. Птиц второй группы вакцинировали двукратно с интервалом 28 суток в объеме $0,5 \text{ см}^3$ в грудную мышцу. Цыплят контрольной группы не прививали и содержали в одном помещении с подопытными группами. Пробы крови для получения сывороток отбирали у цыплят из подкрыльцовой вены с интервалом в 7 суток в течение 56 суток при однократной иммунизации и в течение 21 суток — при двукратной. Сыворотки крови, полученные от цыплят до и после вакцинации, и сыворотки крови от птиц контрольной группы исследовали на наличие антител к пневмовирусной инфекции методом блокирующего иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы SVANOVA (Швеция), а наличие антигемагглютининов определяли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА), которую ставили общепринятым методом [1, 5, 6, 8]. Интерпретацию результатов исследований проводили в соответствии с рекомендациями изготовителя диагностического набора и наставлениям по применению вакцины.

Вакцину считали антигеноактивной, если титр антител в сыворотке крови у 80% вакцинированных цыплят через 21 сутки после иммунизации составлял к вирусу ньюкаслской болезни не ниже 1:32 в РТГА, и процент блокирования антител к пневмовирусу в ИФА был не ниже 40.

Результаты и обсуждение

Динамика формирования антител к

вирусу ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции после однократной и двукратной иммунизации цыплят инактивированной эмульсионной вакциной представлена в табл. 1 и 2.

Исследованиями установлено, что инактивированная вакцина против НБ и пневмовирусной инфекции индуцировала у однократно привитых птиц формирование высокого уровня гуморального иммунитета к вирусу ньюкаслской болезни ($9,55 \pm 0,44 \log_2$) уже через 14 суток после вакцинации. При дальнейшем исследовании в более поздние сроки концентрация антигемагглютининов в крови повысилась до $10,25 \pm 1,70 \log_2$ через 42 суток после прививки и до $10,40 \pm 0,78 \log_2$ через 56 суток (срок наблюдения).

Повторное введение препарата через 28 суток после первой иммунизации не привело к приросту титров антител к вирусу ньюкаслской болезни.

Так, значение титра антител к вирусу НБ через 21 сутки после двукратной иммунизации составило $10,00 \pm 0,56 \log_2$. Возможно, что двукратное применение инактивированной эмульсионной вакцины против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции может быть эффективно в плане продолжительности иммунитета у птиц к данным заболеваниям.

Динамика формирования поствакцинального иммунитета к пневмовирусной инфекции после прививки бивалентной инактивированной вакциной против НБ и пневмовирусной инфекции представлена в табл. 2.

По результатам исследования в ИФА были вычислены проценты блокирования антител против пневмовирусной инфекции, которые явились показателями уровня антител в крови.

Серологические исследования в ИФА

Таблица 1

Титры антител к вирусу ньюкаслской болезни в разные сроки после иммунизации экспериментальной инактивированной эмульсионной вакциной против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц

Сроки, сут. № группы	Титры антител к вирусу НБ в РТГА в сроки после иммунизации, $\log_2$							
	до прививки	7	14	21	28	35	42	56
1	н/о	$2,89 \pm 0,31$	$9,55 \pm 0,44$	$9,78 \pm 0,56$	$10,2 \pm 0,35$	$9,20 \pm 0,80$	$10,25 \pm 1,70$	$10,40 \pm 0,78$
2	н/о	$9,75 \pm 0,42$	$9,80 \pm 0,47$	$10,00 \pm 0,56$	н/и	н/и	н/и	н/и
3	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о

Примечание: н/о — не обнаружено антител к вирусу ньюкаслской болезни; н/и — не исследовали

Динамика формирования у цыплят поствакцинальных антител к пневмовирусу после иммунизации экспериментальной инактивированной эмульсионной вакциной против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц

Сроки, сут. № группы	Процент блокирования антител ¹							
	до при- вивки	7	14	21	28	35	42	56
1	н/о	н/о	8/10 46,6; 43,9-64,9	10/10 62,8; 54,4-71,7	10/10 68,5; 48,5-81,1	9/10 72,8; 66,1-85,5	10/10 69,1 54,6-85,7	10/10 69,5 56,4-83,0
2	н/о	10/10 78,5; 80,7-85,5	9/10 69,7; 49,7-81,6	9/10 71,7 60,3-75,4	н/и	н/и	н/и	н/и
3	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о	н/о

Примечание: ¹ — кол-во положительных результатов/общее количество проб, средний процент блокирования; диапазон положительных результатов

показали, что антитела к пневмовирусной инфекции начали регистрироваться в защитных титрах так же, как и при ньюкаслской болезни, т.е. через 14 суток после прививки (средний процент блокирования антител — 46,6%). В дальнейшие сроки наблюдения этот показатель возрос до значений 69,5–72,8%. После двукратной иммунизации прироста антител к пневмовирусу не обнаружено.

Следует отметить, что общее состояние привитых птиц в течение всего периода наблюдений было удовлетворительным. Показатели среднесуточного прироста массы тела у опытных цыплят не отличались от таковых у птиц контрольной группы

ной группы

Выводы

Таким образом установлено, что экспериментальный образец инактивированной эмульсионной вакцины против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц обладает выраженной антигенной активностью, индуцируя у привитой птицы образование высоких титров специфических антител к вирусу ньюкаслской болезни и пневмовирусу.

Экспериментальные данные показывают перспективность продолжения исследований по разработке данной вакцины и изучения возможности ее внедрения в ветеринарную практику.

РЕЗЮМЕ

В Российской Федерации для специфической профилактики пневмовирусной инфекции птиц и ньюкаслской болезни разработаны и широко применяются моновалентные инактивированные вакцины. С целью снижения стрессовых ситуаций, связанных с многократными парентеральными введениями инактивированных вакцин, и создания надежного иммунитета к обеим инфекциям разработан бивалентная вакцина против ньюкаслской болезни и пневмовирусной инфекции птиц. Данная вакцина обладает выраженной антигенной активностью, индуцируя у вакцинированной птицы образование специфических антител к вирусу ньюкаслской болезни и пневмовирусу.

SUMMARY

In the Russian Federation monovalent inactivated vaccines are developed and applied for specific prevention of avian pneumovirus infection and Newcastle disease. A bivalent vaccine to Newcastle disease and avian pneumovirus was developed to decrease the number of stress situations connected with multiple par-enteral administrations of inactivated vaccines and to induce a strong immunity to both infections. That vaccine has a pronounced antigenic activity and induces specific antibodies to Newcastle disease and avian pneumovirus infection in vaccinated poultry.

Литература

1. М.А. Волкова, Г.В. Батченко, Н.С. Мудрак. Непрямой вариант иммуноферментного метода для определения антител к пневмовирусу птиц // Актуальн. пробл. инфекц. патологии жив-х: матер. Междунар. науч. конф., посвящен. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». Владимир, 2003. С. 358–361.

2. В.Н. Ирза, Т.В. Оковытая, В.В. Борисов, А.Н. Колотилов. Серологический мониторинг по птичьему пневмовирусу (Avian Pneumovirus – APV) в России // Матер. конф. по птицеводству.- Зеленоград -2003. С. 222–223.

3. D.J. Alexander, B.W. Calnek, H.J. Barnes et al. Newcastle disease and other avian paramyxoviridae infections // Diseases of Poultry. 10th ed. Ames, Iowa: Iowa State Univ. Press. 1997. P. 541–569.

4. C. Banet-Noach, L. Siman, S. Perk. Characterization of Israeli avian metapneumovirus strains in turkeys and chickens //Avian Pathol. 2005. V. 34, № 3. P. 220–226.

5. N.J. Chettle, P.J. Wyeth. The use of an ELISA test to detect antibodies to turkey rhinotracheitis // Brit. Vet. J. 1988. V. 144. P. 282–287.

6. J.K.A. Cook, D. Cavanagh. Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses) // Avian Pathol. 2002. V. 31. P. 117–132.

7. R.A. Lamb, P.L. Collins, D. Kolacofsky et al. Paramyxoviridae. N.Y.: Acad. Pres., 2000. P. 835–849.

8. Y. Usami, M. Mase, O. Yamaguchi, K. Imai. Detection of antibodies to avian pneumovirus by a micro indirect immunofluorescent // Avian Dis. 1999. V. 43. P. 384–390.