

Vali G.Gumerov,
MD, staff scientist;

Albert G.Galiullin,
MD, professor;

Ilsiar G. Karimullina,
ScD (Biology), senior staff scientist;

Gulnara Kh. Murtazina,
ScD (Biology);

Zuchra B.Kurbanova,
research assistant;
FGBU FTSTRB-VNIVI

Evaluation of Immunomodulators Influence on Inhibited Associated Inactivated Vaccine Against Cattle Parainfluenza-3, Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus and Bovine Viral Diarrhea-mucosal Disease Using Rabbits

Key words: immunomodulators, associated inactivated vaccine, hematological, biochemical and immunological trials, rabbits.

Annotation: Respiratory and gastrointestinal diseases of young cattle are one of the main problems of veterinary science and practice. In the etiology of these diseases along with viral and bacterial agents play animal important role in immunodeficiency animals. In this regard, the use inactivated vaccines does induce full immunity in young herds.

Aim of this work was to study the effectiveness of combined use of inactivated against associated vaccine BP, BHV b BVDV with immunomodulators of chemical and biological origin using rabbits.

A complex hematological, biochemical, serological and immunological studies of blood samples on experimental and control groups of animal were performed. The study of blood serum for BP, BHV and BVDV showed an increase by 1,0-2,6 Log₂ of post-vaccination antibody titers in the experimental group compared to the control one.

Associated using of immunomodulators of chemical and biological origin with 'Inactivated emulsion associated vaccine against parainfluenza-3, infectious bovine rhinotracheitis virus and bovine viral diarrhea-mucosal disease promotes post-vaccination immunity tension and animal general resistance.

В настоящее время много внимания уделяется изучению иммунодефицита, при котором животные попадают в группу повышенного риска заболевания. Причины иммунодефицита весьма разнообразны: они включают факторы внутриутробного развития, зависящие от материнского организма (первичный иммунодефицит) и воздействия различных иммунодепрессантов (вторичный иммунодефицит). Одним из

них являются возбудители инфекционных болезней. Фармакологическая коррекция нарушений иммунной системы с применением иммуностропных лекарственных средств, направленных на стимуляцию или угнетение функций клеток, участвующих в иммунном ответе, является актуальной задачей иммунофармакологии (1-7).

Материалы и методы. Для проведения опытов, по принципу аналогов были сформированы 8 групп кроликов: 3 опытные (№1,3,5) и 5 контрольных (№2,4,6,7,8). Животных опытных и 7-ой контрольной группы иммунизировали «Ассоциированной вакциной против парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» (ФГБУ «ФЦТРБ»), которую вводили внутримышечно в область шеи в дозе 1,0 см³ двукратно с интервалом 14 дней. Иммуномодуляторы гидрохлорид ксимедона, миксоферон и максидин вводили 3-хкратно: за 48 часов до вакцинации, а также в дни вакцинации и ревакцинации согласно инструкции по их применению.

Взятие крови для гематологических, биохимических, серологических и иммунологических исследований проводили: до вакцинации (фоновые исследования), через 14 дней (ревакцинация), а также через 1,2,3,5 и 7 месяцев после первого введения вакцины.

Гематологические исследования проводили на анализаторе «Mythic-18» изготовитель ЗАО «Кормей».

Биохимические исследования основывались на определении АлАТ, АсАТ, общего белка, альбуминовой, α , β и γ -глобулиновых фракций белков крови.

Антитела к вирусам ПГ-3 определяли в РТГА, ИРТ и ВД- в ИФА.

Количество Т- и В- лимфоцитов определяли методом Е-розеткообразования.

Результаты исследований. Анализ результатов биохимических исследований сыворотки крови показал низкий уровень фермента АсАТ у животных, которым ввели иммуномодуляторы по сравнению с контрольными группами кроликов.

При определении процентного содержания в сыворотке крови глобулиновых фракций белков установлено, что у всех животных в опытных группах после введения ассоциированной вакцины увеличивалось количество α , β и γ -глобулинов, достигая максимального пика к 1-му месяцу после иммунизации.

Результаты гематологических исследований показали, что после введения кроликам ассоциированной инактивированной вакцины происходило незначительное увеличение в крови общего количества лейкоцитов. После применения иммуномодуляторов этот показатель снижался до первоначального уровня.

При исследовании в крови количества эритроцитов, тромбоцитов, моноцитов, гранулоцитов и гемоглобина не было выявлено существенных различий между опытными и контрольными животными (см. таблице 1).

Таблица 1

Результаты иммунологических исследований

Т-лимфоциты, % (M, n=3)

№	Иммуномодулятор	Сроки исследования (дни)
---	-----------------	--------------------------

группы жив-х	----- вакцина	1	3	17	30	60	90
1	гидрохлорид ксимедона+вакцина	37.5	32	41	51	56	27.5
2	гидрохлорид ксимедона	36.5	36	38	39	51.5	28
3	миксоферон+ вакцина	38	37	39	41	43	21
4	миксоферон	34.5	37	39	43	40.5	27.5
5	максидин+ вакцина	25.5	23.5	31	36	50	29
6	максидин	29	35	32	36	37.5	26
7	контроль вакцины	32	28	34	38	32	30
8	интактные кролики	42	47	40	38	46	39

В-лимфоциты, % (М, n =3)

1	гидрохлорид ксимедона+вакцина	29.5	27	31	56	35	23
2	гидрохлорид ксимедона	31.5	30	29.5	36	33.5	26
3	миксоферон+ вакцина	30	32	34	42.5	46.5	26.5
4	миксоферон	17.5	21.5	33	40	38	27.5
5	максидин+ вакцина	20.5	21	37	42	55	31.5
6	максидин	22	26	30	34	42	23
7	контроль вакцины	26	28.5	31	32	25	20
8	интактные кролики	29	28.5	32	30	29	27

Анализ результатов иммунологических исследований, представленные в таблице 1 показал, что после введения кроликам иммуномодуляторов и вакцины происходило увеличение количества Т – лимфоцитов и максимальное их значение достигало 36 - 51,5% к 2-м месяцам после введения препаратов. При исследовании проб крови у этих животных через 3 месяца выявлено снижение этого показателя в 1,3 – 2 раза.

Сочетанное введение иммуномодуляторов и вакцины вызвало также постепенный прирост (с 17 до 40%) количества В – лимфоцитов в течение первых двух месяцев после инъекции препаратов, с последующим их снижением к 3-м месяцам в 1,7 – 1,8 раза.

Результаты серологических исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты серологических исследований

№ гр-уп-пы	Иммуномодулятор вакцина	Сроки исследования						
		1-ый день (вакцинаци	14-й день (ревакцинац	1 мес.	2 мес.	3 мес.	5 мес.	7 мес.

		я)	ия)					
		титры антител в РТГА на ПГ-3 (М, n =3)						
1.	гидрохлорид ксиме-дона + вакцина	0	5,4	10,0	10,8	12,0	11,2	9,0
3.	миксоферон+ вакцина	0	7,2	10,4	11,5	12,9	11,6	8,5
5.	максидин +вакцина	0	3,5	10,4	11,0	11,4	11,1	9,0
7.	контроль вакцины	0	3,5	10,4	10,7	11,0	10,8	8,5
8.	интактные кролики	0	0	0	0	0	0	0
		титры антител в ИФА на ИРТ (М, n =3)						
1.	гидрохлорид ксиме-дона + вакцина	0	2,0	11,2	12,5	13,6	11,3	10,5
3.	миксоферон+ вакцина	0	2,5	10,6	12,9	13,8	11,5	10,6
5.	максидин +вакцина	0	3,4	10,9	12,5	14,7	12,5	11,5
7.	контроль вакцины	0	2,1	11,5	13,3	12,1	10,8	10,6
8.	интактные кролики	0	0	0	0	0	0	0
		титры антител в ИФА на ВД-БС (М, n =3)						
1.	гидрохлорид ксиме-дона + вакцина	0	2,6	12,5	13,7	15,4	14,4	13,3
3.	миксоферон+ вакцина	0	2,0	12,5	14,3	15,6	14,3	13,3
5.	максидин +вакцина	0	2,7	12,5	15,3	16,4	15,3	13,8
7.	контроль вакцины	0	2,2	12,5	13,3	13,9	13,7	13,3
8.	интактные кролики	0	0	0	0	0	0	0

Анализ результатов серологических исследований показал, что у всех кроликов до вакцинации отсутствовали специфические антитела к вирусам ПГ-3, ИРТ и ВД-БС. При исследовании сывороток крови на 14 день после вакцинации был выявлен быстрый рост антител к вирусу ПГ-3 в группе животных, которым ввели иммуностимулятор миксоферон. Средний титр антигемагглютининов в данной группе составил 1:160, в то время как в других группах у вакцинированных кроликов титры антител были на уровне 1:15-1:45.

Максимальная величина титров антител ко всем трем антигенам была выявлена через 3 месяца после вакцинации. Так при постановке РТГА на ПГ-3 с сывороткой крови кроликов, которым дополнительно ввели иммуномодуляторы гидрохлорид ксимедона, миксоферон и максидин, установлено увеличение титров антител на 1,0, 1,9 и 1,4 \log_2 соответственно по сравнению с контрольной вакцинированной группой.

При исследовании сыворотки крови в ИФА на инфекционный ринотрахеит также выявлен рост на 1,5-2,6 \log_2 титров антител у опытных животных по сравнению с контрольными кроликами.

При постановке ИФА на ВД-БС с аналогичными пробами сыворотки крови установлен прирост специфических антител в опытных группах животных на 1,5-2,5 log₂ по сравнению с контрольной вакцинированной группой кроликов.

Дальнейшие серологические исследования показали, что титры антител, как у опытных, так и у контрольных вакцинированных животных, через 5 мес. после вакцинации снижаются и к 7-и месяцам (срок наблюдения) достигают одинакового уровня.

Заключение: Таким образом, сочетанное применение ассоциированной инактивированной вакцины против ПГ-3, ИРТ и ВД-БС с иммуномодулирующими препаратами биологического и химического происхождения способствуют усилению напряженности поствакцинального иммунитета и общей резистентности организма животных, что обеспечивает высокую профилактическую эффективность при вирусных инфекциях.

References:

1. Andreeva A, Yakupova G. Combined use of antimicrobial and immunostimulatory drugs for respiratory diseases of calves: *Veterinary farm animals*. 2011. №11; 42-44.
2. Batishcheva EV. Cost-effectiveness of prevention of PG-3 and IRT cattle using vaccines alone and in combination with seledant: *Actual problems of diseases of young animals in modern conditions: Mater. Intern. scientific-Practical. conf. Voronezh*, 2008; 26-30.
3. Murtazina GH, Macaev IH. Study immunostimulatory properties hydrochloride xymedon infectious diseases: *Proceedings of the international scientific-practical conference vet.nauki. Part 2. Krasnodar*, 2011; 278-280.
4. Rejepova G, Sisyagin P, Sisyagina E, Ubitina I. A method for preventing respiratory diseases of calves viral-bacterial etiology: *Veterinary farm animals ..* 2012. №9; 22-25.
5. Sisyagin P. Sisyagina E., Rejepova G, Yoldashev Yu, Ubitina I. Immune status in clinically healthy subjects and patients with mixed respiratory diseases of calves according to the association of pathogens: *Veterinary farm animals*. 2012. №9; 54-59.
6. Shahov AG, Fedosov DV, Sashnina LY, Masyanov YN et al. Effect of immune status on the emergence and development of respiratory disease in calves in specialized farms: *Actual problems of Veterinary Biology*. 2012. №3 (15); 19-25.
7. Fedorov YN. Clinical and immunological characteristics and immunotherapy immunodeficiencies animals: *Veterinary Medicine*. 2013. №2; 3-8.