

В: Тезисы докл. II съезда паразитологического общества при Российской Академии Наук. „Экологический мониторинг паразитов. Паразитарные системы в изменяющейся среде: прогнозирование последствий глобального потепления климата и растущего антропогенного пресса”, 18-20 ноября 1997. Санкт-Петербург, 1997, с. 48.

CZU:619:616.98:578.834.11

NIVELUL TITRELOR DE ANTICORPI POSTVACCINALI LA PUII VACCINAȚI CONTRA BRONȘITEI INFECȚIOASE ÎN COMBINAȚIE CU BIOMASĂ PROTEICĂ DE CIUPERCI

NICOLAE STARCIUC, NATALIA OSADCI, TUDOR SPATARU, RITA GOLBAN, RUSLAN ANTOCI, SERGIU BUGNEAC, VERONICA BUGNEAC, ALEXANDRU MANCIU, AUREL CIUCLEA

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Summary. This article includes the results of experimental investigations in order to assess the comparative immunological efficacy of different vaccines strains used in the immunization against infectious avian bronchitis.

Currently, there is a tendency to develop large production of substances and biologically active products from microorganisms or their products, such as premixes and growth stimulators, which are used to increase body mass, immunity, physiological indices and specific resistance of the organism. As a biologically active product and as a duality of immunocorrector it was used the protein mushroom biomass.

Data presented in this study confirmed the low post-vaccination immunological efficacy was recorded in the chicken group which was vaccinated at the age of one day old only with vaccine while the best results of the immune stimulatory effect was that of vaccines which were administered in combination with the protein mushroom biomass. For vaccination were used vaccine strains: “H-120”, and “Ma5+Clon30”, which were administrated by spray and drenching water methods.

Key words: Immunostimulator, Infectious bronchitis, Protein biomass, Spray, Vaccination.

INTRODUCERE

Bronșita infecțioasă aviară (BIA) este o boală înalt contagioasă, care afectează găinile de toate vârstele, dar cei mai sensibili sînt puii cu vârsta de la 1-2 pînă la 5-6 săptămîni, la care boala de regulă se maniferstă și se manifestă cu forme respiratorii grav (raluri trahiale, strănut, secreții nazale și mortalitate ridicată, iar la găinile adulte prin tulburări ale ouatului (ouăle prezintă deformțiile coajei, cu coaja moale sau pigmentație neuniformă) iar morfopatologic – prin inflamația catarală a mucoasei trahiobronșice, dopuri cazeoase în bronhii și pneumonie la tineret, la păsările - adulte ovarite, salpingite, nefroze severe.

Pe parcursul ultimilor ani în țările cu o avicultură înalt dezvoltată cercetătorii au efectuat investigații științifice semnificative în diverse domenii ale patologiei aviare și în special în structura, morfogeneza și biologia moleculară a virusului bronșitei infecțioase aviare. În baza cercetărilor respective au fost elaborate noi tulpini vaccinale, scheme și metode noi de vaccinare și de combatere a bolii (MÂNZAT R. M., 2005; STARCIUC N., CONSTANTIN VASIU, 2012).

Bronșita infecțioasă aviară a fost semnalată pentru prima dată în anul 1930, de către A. Schalk și M. Hawn, în statul Dakota de Nord - S.U.A, fiind descrisă ca o nouă boală respiratorie a puilor de găină, care apare frecvent pe tot parcursul anului, chiar și la efectivele vaccinate.

Odată cu dezvoltarea intensivă industrială a aviculturii, bronșita infecțioasă aviară s-a răspîndit și în prezent se întîlnește și este descrisă pe toate continentele și în majoritatea țărilor lumii.

La tineretul avicol boala se înregistrează cu o incidență mărită unde avicultura este bine dezvoltată și cu o intensitate mărită. S-a constatat că la tineret boala decurge mai grav comparativ cu

păsările adulte nevaccinate morbiditatea este de 100%. Mortalitatea variază în dependență de tulpina virală și poate atinge pînă la 60 %. Semnele respiratorii dispar în două săptămîni (OSADCI N. ș. a., 2012; STARCIUC N., CONSTANTIN VASIU, 2012; MANUEL TERRESTRE DE L'OIE, 2008).

La început, boala a fost semnalată numai la pui în primele zile de viață, însă mai apoi a fost semnalată și la puii cu o vîrstă mai înalată, doar sub o formă mai puțin gravă. S-a constatat însă că fac boală la fel fazanii și prepelițele.

Virusul are tropismul în special pentru celulele epiteliale ale căilor respiratorii anterioare, ale oviductului și pentru epiteliul tubilor uriniferi (CAVANAGH D. et. al., 2007; TERREGINO C. et. al, 2008).

Scopul acestui studiu a fost de a stabili eficiența imunologică comparativă a unor vaccinuri administrate separat și în combinație cu biomasa proteică a ciupercilor comestibile în calitate de imunostimulator, administrat ca supliment furajer.

MATERIAL ȘI METODĂ

Puii de găină din loturile experimentale au primit biomasă proteică în diferite concentrații, care a fost administrată cu hrana în combinație cu vaccinurile contra bronșitei infecțioase aviare.

Pentru a efectua aceste investigații au fost formate 3 loturi de pui de găină rasa „Alder argintie” a cîte 25 pui în fiecare grupă. Grupa de pui I a servit ca lot martor. Puii din grupa a II-a au fost vaccinați cu tulpina H-120 de 2 ori, la vîrsta de 1 și 23 de zile. Puii din grupa a III-a au fost vaccinați cu vaccinul Ma5+Clon30 de 2 ori, la vîrsta de 1 și 23 de zile.

La prima imunizare, la vîrsta de o zi, toate grupele experimentale au fost vaccinate prin metoda spray, iar la a doua imunizare (la 23 de zile) cu apa de băut.

Pe tot parcursul investigațiilor puilor li s-a administrat biomasă proteică de ciuperci de 1% din rația alimentară. Schema de vaccinare și de administrare a biomasei proteice de ciuperci este prezentată în tabelul 1.

Investigațiile referitor obținerii biomasei proteice au fost efectuate la catedra Nutriția animalelor, Facultatea de Zootehnie și Biotehnologii.

Pentru obținerea biomasei proteice s-a luat substratul de creștere a ciupercilor comestibile, s-a uscat, s-a mărunțit, s-a apreciat concentrația proteinei, după care s-a administrat puilor în diferite doze.

Pînă la vaccinare și la vîrsta puilor de 1, 10, 20, 35 și 45 de zile din fiecare grupă au fost sacrificați cîte 3 pui de la care s-au recoltat probe de ser sangvin pentru determinarea nivelului titrelor de anticorpi pentru a stabili eficiența imunologică a vaccinurilor și unii indici biochimici ai sîngelui.

Eficiența imunologică a vaccinurilor a fost apreciată cu ajutorul testului ELISA.

Testul ELISA a decurs în următoarele etape:

A fost pregătită soluția tampon de spălare, prin diluția 1:10 cu apă distilată. Pentru o placă de testare a fost diluat 25 ml din concentratul de tampon de spălare la 225 ml apă distilată și s-a agitat. Mai departe probele de ser supuse investigării au fost diluate în raport de 1:500 cu diluantul tampon, respectiv în eppendorfuri de 600 μl a fost diluat 1 μl ser de cercetat la 499 μl de diluant tampon și s-a agitat. Bineînțeles de fiecare dată se schimbă pipeta la fiecare probă de ser. Soluția control nu se diluează.

Testul ELISA se efectuează la temperatura de 18-25°C. În godeurile 1 și 2 ale plăcii se pune soluția Control Negativ, în godeurile 3 și 4 ale plăcii se pune soluția Control Pozitiv, în celelalte godeuri se pun serurile de cercetat diluate anterior cu diluantul tampon. Atît soluțiile Control cît și serurile de cercetat diluate 1:500 se toarnă în placă a cîte 100 μl. Placa se agită și se acoperă.

Placa se incubează la temperature camerei 30 min, după care se înlătură conținutul prin aspirare sau prin baterea plăcii. Se clătește fiecare godeu de 3 ori cu cîte 300 μl soluție tampon de spălare, înlăturînd tamponul după fiecare spălare. Se adaugă cîte 100 μl conjugat în fiecare godeu.

Tabelul 1. Schema de vaccinare a puilor contra bronșitei infecțioase aviare

Nr. grupei	Tulpina vaccinată administrată	Nr. de pui	Vârsta puilor la momentul vaccinării (zile)	
			I	II
1	Lot martor	25	-	-
2	H-120+ în combinație cu biomasă de 1%	25	1	23
3	Ma5+Clon30 + în combinație cu biomasă de 1%	25	1	23

Placa se incubează la temperatura camerei 30 min, godeurile se golesc prin aspirare sau placa se bate. Se adaugă câte 100 µl Soluție Substrar TMB în fiecare godeu. Se incubează timp de 10 min la temperatura camerei în întuneric. După perioada de incubare se stopează reacția prin adăugarea a câte 100 µl Soluție Stop per godeu. Se calibrează spectrofotometrul, se citește rezultatul la densitatea optică 450 imediat sau peste 20 min după stoparea reacției. Pentru ca testul să fie valid valoarea medie a densității optice pentru Controlul Pozitiv trebuie să fie $\geq 0,7$, iar valoarea medie a densității optice pentru Controlul Negativ trebuie să fie $\leq 0,2$.

Rata de absorbție se calculează prin formula:

$$S/P \text{ ratio} = \frac{DO_{prob} - DO(VM)_{cn}}{DO(VM)_{cp} - DO(VM)_{cn}}$$

S/P ratio – rata de absorbție;

DO prob – densitatea optică a probei;

DO(VM)cn – valoarea medie a densității optice pentru Controlul Negativ;

DO(VM)cp - valoarea medie a densității optice pentru Controlul Pozitiv.

- Probele de ser cu rata de absorbție $< 0,2$ sînt diagnosticate negativ. Anticorpilor specifici pentru VBI nu pot fi detectate.

- Probele de ser cu rata de absorbție $\geq 0,2$ și $< 0,3$ sînt diagnosticate ca dubioase. Rezultatele dubioase pot indica o formare insuficientă sau a unei descreșteri a anticorpilor specifici.

- Probele de ser cu rata de absorbție $\geq 0,3$ sînt diagnosticate ca pozitive. Au fost detectați anticorpilor specifici pentru VBI.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele prezentate în tabelul 2 relatează că în grupa puilor lot martor titrele de anticorpi la I-a zi au constituit 1: 703,0. La ulterioarele investigații titrele de anticorpi au fost depistate în raport 1: 362,5 la a 10-a zi, cu lipsa acestora la următoarele examinări.

La puii din grupa a II-a, care au fost vaccinați cu tulpina H-120 în combinație cu biomasă proteică de 1%, după administrarea vaccinului nivelul titrelor de anticorpi au prezentat valori negative pe toată perioada de examinare.

În grupa a III-a unde puii au fost vaccinați cu tulpina Ma5+Clon30 în combinație cu biomasă proteică de 1%, titrele de anticorpi postvaccinal au constituit 1: 859,2 la a 10-a zi. Cele mai joase titre de anticorpi au fost stabilite la a 20-a și 35-a zi după vaccinare, iar la a 45-a zi titrele de anticorpi au constituit 1: 528,7.

În figura 1 poate fi observată oscilația titrelor de anticorpi la diferite vârste la cele trei grupe experimentale. Din imaginea respectivă reiese că nivelul titrelor de anticorpi postvaccinali la puii din a 3-a grupă experimentală este cuprins între valori pozitive.

Tabelul 2. Nivelul titrelor de anticorpi post vaccinali

Nr. gr.	Nr. de pui	Vârsta puilor vaccinați (zile)	Tulpina vaccinală	Anticorpul postvaccinali (zile)			
				10	20	35	45
I	25	-	Lot martor	242,2	156,6	206,2	87,1
				480,2	56,2	126,1	51,2
				365,2	121,1	42,6	97,1
				362,5±70,0	111,3±29,9	124,9±48,1	78,4±14,1
II	25	3	H-120 în combinație cu biomasa proteică de 1%	471,0	166,7	350,8	101,1
				115,7	152,1	214,1	28,2
				55,5	101,1	203,1	8,2
				214,0±132,0	139,9±20,2	256,0±48,3	45,8±28,7
III	25	5	Ma5+Clon30 în combinație cu biomasa proteică de 1%	1021,4	217,7	57,4	1161,7
				316,1	102,9	84,7	73,8
				1240,1	44,6	37,3	350,8
				859,2±284,0	121,7±51,7	59,8±13,9	528,7±332,5

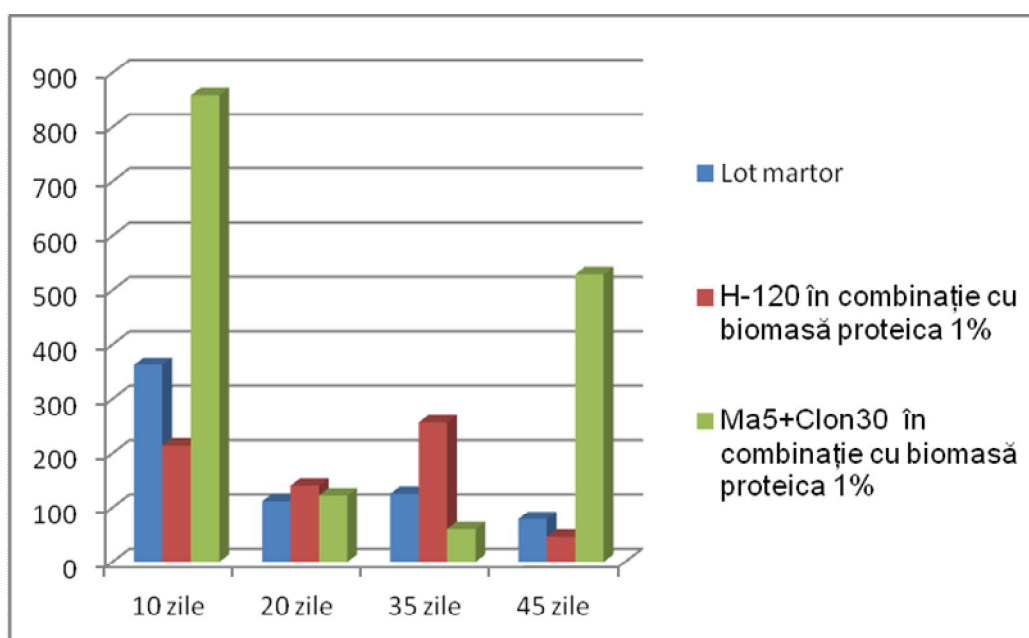


Fig. 1. Dinamica titrelor de anticorpi în serul sangvin la puii vaccinați cu tulpina H-120 și Ma5+Clon30 în combinație cu biomasa proteică

CONCLUZII

1. Administrarea biomasei proteice de ciuperci ca adaos în combifuraje a influențat benefic la nivelul titrelor de anticorpi postvaccinali ce sa exprimat prin majorarea acestora.
2. O eficacitate imunologică mai înaltă a fost obținută în cazul administrării vaccinului asociat Ma5+Clon30 în combinație cu biomasa proteică de 1%, la vârsta puilor de o zi și 23 de zile.

BIBLIOGRAFIE

1. MÂNZAT R. M. Boli virotice și prionice ale animalelor. Timișoara: Brumar, 2005; pp. 729, ISBN 973-602-085-1.
2. OSADCI N., STARCIUC N., SPATARU T., ș. a. Detecția titrelor de anticorpi postvaccinali împotriva bronșitei infecțioase în condiții experimentale. În: Știința Agricolă, nr. 1, Chișinău, 2012, pp. 79-82, ISSN 1857-0003.
3. STARCIUC N., CONSTANTIN VASIU. Boli infecțioase ale animalelor agricole. Partea II-Viroze și boli prionice, Chișinău, 2012, p. 419.
4. CAVANAGH D. et. al. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. Institute for Animal Health, Compton Laboratory, United Kingdom, Vet Res. 2007, 38(2), p. 281-297, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/Pubmed_RV (vizitat 28.11.2008).
5. MANUEL TERRESTRE DE L'OIE. Bronchite infectieuse aviare. 2008, p. 482-495, <http://www.oie.int> (vizitat 17.06.2009).
6. TERREGINO C. et. al. Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and comercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. In: Avian Pathology, Taylor & Francis Group, 2008 Oct; 37(5), p. 487-493.

CZU:619:616.995.1:636.32/.38

RĂSPÎNDIREA HELMINTOZELOR LA CANIS FAMILIARIS ÎN UNELE GOSPODĂRII PARTICULARE DE OVINE

ANTONINA DUMITRIU

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Summary. Shepherd dogs and companion animals are carrying parasites. As a result of the accomplished investigations there have been established extensive invasions in sheep farms and there were proposed antiparasitic treatment schemes with a scientific foundation.

Key words: Dogs, Extensive invasion, Parasitosis.

INTRODUCERE

Un imens volum de date privind încărcătura parazitară la câini este frecvent întâlnită în literatura de specialitate, inclusiv la întrunirea EMOP (European Multicollogium of Parazitology) 2000, care demonstrează fenomenul de poliparazitism la cîinii de toate rasele, vîrstele și de pe toate meridianele (GH.OLTEANU 2001).

În urma cercetărilor efectuate în R.Moldova de către E.ZGARDAN; N.JUVENALI; NINA TĂLĂMBUȚĂ; I. CERCEL (2008) s-a stabilit că la cîinii ciobănești parazitează 4 specii de cestode: *Ehinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *Multiceps multiceps* și *Dipylidium caninum*.

L. BONDARI (1999) relatează că extensivitatea invaziei (EI) cu *E. granulosus* la cîinii poliparazitați din R. Moldova este de 30.7%, fiind înregistrate și alte specii de cestode inclusiv *Multiceps*, *Taenia* etc. precum și alți paraziți. Informațiile limitate despre aceste helmintoze în gospodăriile de întreținere a ovinelor ne-au determinat să stabilim specificul invaziei la cîinii ciobănești și cei care însoțesc animalele tot odată ținînd cont de utilizarea în practica parazitologică a unui tratament antiparazitar complex.

Sursele de contaminare în aceste gospodării și nu numai sînt organele invadate (parenchime), capete de oi, animalele sacrificate forțat cu care sînt hrăniți cîinii.

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetării au fost supuși 13 cîini ciobănești cu vîrsta cuprinsă între 1-7 ani, din diferite gospodării particulare (turme) de ovine din raionul Criuleni și Ialoveni în perioada 2010-2013. Cîinii au fost studiați prin metoda necropsiei totale după C.SKRJABIN (1928).