Обзор вакцин против эймериоза кур, представленных на российском рынке

Overview of vaccines against poultry coccidiosis, presented on Russian market

Кашеева М.А.

г. Москва

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-3-12
УДК: 619:616.993.192.1-085.37:636.5

Ключевые слова: эймерии, кокцидиоз, птицеводство, антикокцидийные вакцины, иммунопрофилактика, цитокины, аттенуированные вакцины, вирулентные вакцины против кокцидиоза.

Key words: Eimeria, coccidiosis, poultry, anticoccidial vaccines, immunoprophylaxis, cytokines, attenuated and virulent vaccines against coccidiosis.

Резюме. Вакцинопрофилактика эймериоза кур начинает все чаще применяться для борьбы и профилактики с данными паразитическими простейшими. Эта тема становится особенно актуальной в связи с ежегодно возрастающей резистентностью эймерий к антикокцидийным препаратам. В данной обзорной статье будут рассмотрены механизмы действия различных типов вакцин, их эффективность, охарактеризованы вакцины, представленные на российском рынке.

Summary. The use of vaccines for the control of coccidiosis due to Eimeria infections in poultry becomes more and more popular. Nowadays this method of prophylactics is of current importance due to extensive growth of Eimeria resistance to all known anticoccidials. This review describes basis of vaccine efficacy, types of commercially available vaccine in Russia.

Введение

Впервые формирование иммунитета к эймериям было замечено американскими исследователями Beach и Corl у кур, зараженных живыми ооцистами. Первое время вакцины против кокцидиоза использовались на родительских племенных стадах и в меньшей степени на бройлерах и несушках.

Сегодня в мире существует около 20 вакцин против эймериоза кур. В основном осуществляется вакцинация племенного стада и несушек при напольном выращивании, а на территории ЕС еще и медленнорастущих бройлеров на экологически чистых "зеленых" фермах и вакцинация стандартных бройлеров при высокой степени инвазии.

Живые вакцины различаются включенным в них видовым составом ооцист и их типом (аттенуированные/вирулен-

тные), устойчивостью видов эймерий к кокцидиостатикам, методом применения [4].

В данной статье собрана и отражена подробная информация о вакцинопрофилактике эймериоза кур, полученная исследователями по всему миру за последние два десятилетия. Эти знания необходимы для лучшего понимания механизмов взаимодействия эймерий, вакцин и иммунной системы хозяина, а, следовательно, и для осмысленной и качественной профилактики эймериоза.

1. Живые неаттенуированные (вирулентные) вакцины

Вирулентные вакцины против эймериоза кур содержат немодифицированные лабораторные либо полевые штаммы эймерий, у которых сохранена естественная вирулентность [9].

Долгое время применение живых неаттенуированных вакцин было ограничено в связи с патогенностью, входящих в их состав кокцидий. Так, до конца 1990-х годов вакцинация живой вирулентной вакциной сопровождалась проведением химиотерапии для контроля вспышек эймериоза [9]. Тем не менее, на данный момент применение кокцидиостатиков не требуется в результате корректировки вакцин [9].

Вирулентные живые вакцины вызывают некоторые поражения слизистой оболочки кишечника. Считается, что это хорошо стимулирует выработку активного иммунитета у птиц. Однако такие поражения предрасполагают к возникновению некротического бактериального энтерита, вызываемого *Clostridium perfringens*, что вызывает снижение продуктивности птицы [1].

Таким образом, патогенность может часто превышать иммуногенность, кроме того, вирулентные вакцины могут занести в стадо новые виды эймерий.

Большинство вирулентных вакцин содержат чувствительные к кокцидиостатикам эймерии, исключение составляют Nobilis® COX ATM и VAC M® (не используются на территории РФ). В их состав входят ионофорорезистентные штаммы эймерий. Это позволяет не препятствовать формированию иммунитета при совместном применении вакцины с ионофорными антибиотиками [4].

Описание вирулентных вакцин против кокцидиоза, присутствующих на российском рынке

Вакцина Иммукокк®-C2 (Immucox II®, Ветек Лабораториес Инк., Канада; Сева Санте Анималь, Франция), представленная сейчас на российском рынке, содержит вирулентные ооцисты кокцидий *E.acervulina*, *E.brunetti*, *E.maxima*, *E.tenella*, *E.necatrix*. Вакцина предназначена для иммунизации родительского стада и кур-несушек. Цыплят вакцинируют в 1–5-дневном возрасте спрей-методом. Иммунитет против эймериоза формируется через 2 недели и сохраняется в течение 3 – 4-х месяцев. Вакцина представляет собой гель ярко-зеленого цвета, в котором находятся ооцисты. Компания разработчика предлагает специальное оборудование "ДЕЗВАК коксигель вакцинатор" для применения вакцины в инкубатории. По словам разработчиков, система распределения геля обеспечивает точный размер

Информация об авторах / Information about the authors

Кашеева М.А., аспирант 3-го года обучения кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы
Василевич Ф.И., доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ректор, заведующий кафедрой паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы kascheeva.provet@ya.ru
ФГБОУ ВО Московская Государственная Академия ветеринарной медицины и биотехнологий - МВА имени К.И. Скрябина, Россия, Москва, ул. Академика Скрябина, д.23.
Vasilevich F.I., Kascheeva M.A.

капли и дозировку, рассчитанную для эффективной вакцинации.

Кокцивак В и Кокцивак D (Интервет, Великобритания) – вирулентные вакцины для иммунизации бройлеров и долгоживущей птицы соответственно. Используются вместе с пищевым красителем красного цвета, содержат все необходимые для защиты бройлеров (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati*, *E. tenella*) и племенной птицы виды эймерий (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. praecox*, *E. mivati*, *E. hageni*).

Интересно, что в инструкции прописана возможная поствакцинальная реакция в виде падежа птицы на 14–15 день после вакцинации. В этом случае после установки причины падежа рекомендуется провести лечение эймериоза с использованием сульфаниламидных препаратов или ампролиумом.

2. Живые аттенуированные вакцины

Механизм действия аттенуированных вакцин заключается в применении низких доз ооцист, которые затем вызывают реинвазию птицы, после чего формируется иммунитет [2]. Аттенуированные вакцины включают в свой состав ооцисты эймерий с искусственно сниженной вирулентностью, это значит, что после вакцинации повреждение кишечника будет незначительным и не отразится на птице. Следовательно, риск возникновения бактериального и некротического энтерита и вспышки эймериоза минимален.

Все живые вакцины содержат от двух и более видов эймерий, например в состав Паракокса® входит 7 видов эймерий, а другие вакцины состоят из 3–5 видов (Эвалон®, Ливакок® Q, T, Авикок®, Эймериавакс® 4м, Паракокс® – 5 и др). Однако экономически выгодно использовать вакцины, содержащие только виды актуальные для данной географической зоны. Любая живая вакцина может расширить видовой состав эймерий, циркулирующий на птицефабрике. Поэтому в Европе все большую популярность завоевывает лабораторный анализ (ПЦР – метод), позволяющий дифференцировать виды эймерий на конкретной птицеферме [4].

Из множества предложенных методов аттенуации кокцидий в производстве коммерческих вакцин используется лишь два – пассаж паразитов через куриные эмбрионы (например, *E. tenella* в вакцине Ливакок®) и селекция быстро развивающихся штаммов (например, другие виды в вакцине Ливакок®, все виды в Паракокс®). [9]

Описание аттенуированных вакцин против кокцидиоза, присутствующих на российском рынке

Впервые в России в 1988 году учеными ВНИВИП была разработана вакцина Авикок® для иммунизации цыплят бройлеров и ремонтного молодняка птиц мясного и яичного направлений с применением живых видов кокцидий (*E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. necatrix*). Культура кокцидий включает суспензию живых аттенуированных ооцист кокцидий трех видов для бройлеров (*E. tenella*, *E. acervulina*, *E. maxima*), а для родительского стада и несушек – четырех (с включением *E. necatrix*). Используемые виды кокцидий выделены из полевых изолятов более 25 лет назад. Матричные штаммы не имели контакта ни с одним из кокцидиостатиков, поэтому являются высокочувствительными к ним. По рекомендации разработчиков после иммунизации бройлеров с напольным выращиванием желательно использовать кокцидиостатики в течение 10 дней [1]. При использовании культуры кокцидий на птицефабриках, где была отмечена значительная резистентность к антикокцидийным препаратам, вакцина Авикок позволила через 1–1,5 года полностью вытеснить полевые нечувствительные штаммы. Это означает, что к применению неэффективных антикокцидийных средств (по причине устойчивости к ним эймерий) можно вновь вернуться и применять их в ротационных программах [1].

Вакцины Паракокс® и Паракокс – 5 (Parasox® – 8 и Parasox – 5, Интервет – Шеринг-Плау Анимал Хелс, Вели-

кобритания) изготовлены из аттенуированных спорулированных ооцист кокцидий следующих видов: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima* CP, *E. maxima* MFP, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella* и *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. mitis* и два штамма *E. maxima* соответственно. Данные вакцины стали первыми живыми вакцинами, которые включали в себя ооцисты быстроразвивающихся штаммов эймерий, что позволило обеспечить полную безопасность при их использовании.

Ливакок® Q (Biopharm, Чешская Республика) – аттенуированная вакцина для иммунизации ремонтного молодняка кур против эймериоза. Содержит спорулированные ооцисты четырех видов кокцидий – *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*, *E. necatrix*.

Ливакок® T – аттенуированная вакцина для иммунизации бройлерного птицепоголовья против эймериоза кур. В состав вакцины входят ооцисты трех видов эймерий, представляющих опасность для бройлеров – *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*.

Обе вакцины вводят перорально с питьевой водой или спрей-методом в инкубаторе с первого дня жизни. Иммунитет развивается через 14 дней после вакцинации.

Вакцина Адвент® (Advent® Huverpharma Inc., Болгария) против кокцидиоза цыплят-бройлеров. Изготовлена из спорулированных ооцист эймерий птиц: *E. acervulina*, *E. maxima* и *E. tenella*, данные три вида наиболее распространены среди цыплят-бройлеров, в связи с чем ненужные виды были исключены из состава вакцины для предупреждения их циркуляции в стаде. В состав вакцины также входит краситель зеленого цвета. Иммунитет сохраняется в течение 18 недель после однократного применения. Цыплят-бройлеров вакцинируют в суточном возрасте спрей-методом или задают с кормом.

Вакцина Эймериавакс® 4м (Huverpharma Inc., Болгария) предназначена для профилактики кокцидиоза ремонтного молодняка кур. Вакцина изготовлена из спорулированных ооцист *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix* и *E. tenella*, суспендированных в фосфатно-буферном растворе. Вакцинация в суточном возрасте обеспечивает формирование иммунного ответа у цыплят через 14 суток после однократного применения, который сохраняется в течение 18 недель. Окулярный метод введения обеспечивает попадание вакцины в желудочно-кишечный тракт цыпленка через носослезный канал, однако необходимо учитывать трудозатратность данного метода индивидуальной вакцинации. По данным разработчиков вакцины, наблюдается улучшение однородности родительского стада на 3–6%.

Новая вакцина Эвалон® (Хипра Лаб., Испания) включает в себя аттенуированные спорулированные ооцисты *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. necatrix* и *E. tenella* быстро развивающихся штаммов и предназначена для профилактики эймериоза птиц у несушек и в племенных стадах. Последняя разработка испанской компании заключается в добавлении к вакцине адьюванта Hipramune T, компоненты которого вызывают увеличение экспрессии цитокинов IL-2 и IFN-γ, отвечающих за стимулирование клеточного иммунитета птицы, который играет ключевую роль в противостоянии инвазии. Кроме того, адьювант содержит лиловый краситель и ванильный ароматизатор для стимуляции активного склевывания капель вакцины птицей как при хорошем, так и при недостаточном освещении.

По данным исследования разработчиков вакцины, продолжительность сформированного иммунного ответа достигает 60 недель, в отличие от 18–36 недель, гарантируемых другими производителями. Компания разработчика также предлагает специальное оборудование и программное обеспечение на русском языке для наиболее эффективного и полностью контролируемого процесса вакцинации с передачей данных на компьютер или планшет.

3. Направление создания молекулярных вакцин

Основным недостатком живых вакцин является их огра-

ниченный срок годности, а также высокие издержки производства, связанные с аттенуацией. Кроме того, довольно трудно накапливать живые ооцисты и производить необходимое количество материала для вакцинации миллиардов птицы ежегодно. Поэтому появилась необходимость в разработке и создании молекулярных вакцин против кокцидиоза.

Субъединичная вакцина

В поиске потенциальных агентов для создания вакцины было идентифицировано несколько белков, ассоциированных с половой стадией развития *E. maxima*, с молекулярной массой антигенов в 14, 30, 56, 82 и 230 кДа. [8]

При их исследовании и иммунизации кур антигенами массой 56 и 230 кДа, наблюдали формирование клеточно-опосредованного иммунитета против экспериментального эймериоза и, как следствие, снижение выделения ооцист. Так была создана первая и единственная в мире субъединичная вакцина *Soxabic®* (Абик, Израиль). Она включает в себя очищенные протеины гаметоцитов *E. maxima*. Вакцина предназначена для защиты бройлерного птицеполовья путем иммунизации родительского стада. Вакцинация осуществляется двукратно в грудную мышцу кур до начала яйцекладки, таким образом, у кур стимулируется процесс выработки антител класса Y, которые передаются цыплятам-бройлерам через желток яйца [2]. В результате полученного от матерей пассивного иммунитета, у цыплят наблюдается менее обильное выделение ооцист не только *E. maxima*, но и *E. acervulina*, *E. tenella*. Данное открытие было поразительным, так как оно буквально опровергло догму о видоспецифичном иммунитете против эймерий, по крайней мере, после естественного заражения [10]. Однако на данный момент на территории РФ она не применяется, в связи не только с высокой стоимостью вакцины, но и сомнительностью теоретической обоснованности ее эффективности.

Разработка ДНК и векторных вакцин

Микронемы представляют собой составную часть апикального комплекса всех паразитов типа *Apicomplexa* и отвечают за адгезию и проникновение в клетку хозяина. Были идентифицированы и клонированы несколько генов, кодирующих протеины микронемы *E. tenella*. Гены *EtMIC2* и *EtMIC4*, кодирующие соответствующие белки, оказывают протективный эффект, а при вакцинации *EtMIC2 in ovo*, было отмечено стимулирование протективного интестинального иммунитета против *E. tenella* и *E. acervulina*. Более того, гены *EtMIC1* и *EtMIC2* могут индуцировать как гуморальный, так и клеточно-опосредованные ответы. [7]

Кроме того, довольно перспективным направлением считается разработка векторных рекомбинантных вакцин против эймериоза кур. В качестве векторов в роли подходящих кандидатов рассматриваются вирус оспы птиц и вирус герпеса индеек в виду их способности вмещать необходимое количество генов для экспрессии множественных белков эймерий, которые смогут обеспечить защиту против различных видов паразита [3].

Адьюванты

Поиск повышения иммуногенности вакцин показал, что совместное введение *in ovo* белков *MIC2* с определенными

последовательностями внеклеточных нуклеиновых кислот (CpG или ОДН)), может иметь огромное иммуностимулирующее действие.

Так, при исследовании роли одного из ОДН – CpG 2006, оказалось, что он обладает сильным активизирующим эффектом на куриные макрофаги, что было продемонстрировано повышенной экспрессией провоспалительного цитокина IL-6, увеличенным высвобождением оксида азота, повышенной экспрессией клеточных поверхностных маркеров. Таким образом, CpG ОДН оказывают иммунопротективное воздействие и могут быть использованы для разработки вакцины против эймериоза кур [4, 5, 11].

Усиление иммунного ответа хозяина также было достигнуто после введения интерлейкина 2 (IL-2) куриного происхождения [7]. Введение интерлейкинов 8 и 16 (IL-8, IL-16), фактора роста опухоли – $\beta 4$ (TGF- $\beta 4$) и лимфотактина совместно с вакцинацией показало существенное снижение выделения ооцист с пометом и увеличение продуктивности птицы, что свидетельствовало о повышении эффективности вакцинации [8].

В 2016 году ученые попробовали использовать спорозоиты эймерий в роли вектора в вакцине против токсоплазмоза мышей и птиц и добились успешных результатов. Эта разработка открыла возможность использования эймерий в составе живых вакцин для доставки гетерологичных антигенов и экспрессии чужеродных белков. Таким образом, сегодня эймерии уже выступают в роли поливалентных вакцинных векторов, которые способны защитить птицу от ряда патогенов.

Литература

1. Кириллов, А.И. Кокцидиозы птиц - М.: типография Россельхозакадемии, 2008. - С. 230.
2. Belli, S.I. Biochemical characterisation of the 56 and 82 kDa immunodominant gametocyte antigens from *Eimeria maxima*/ Belli S.I., Lee M., Thebo P., Wallach M.G., Schwartsburd B., Smith N.C.// *Int J Parasitol* - 2002. - 15(32) - 805-816 p.
3. Cornenberg, A.M. Vaccination of virus with HVT expressing an *Eimeria acervulina* antigen improves performance after challenge with *Eimeria*/ Cornenberg A.M., Van Geffen C.E., Dorrestein J., Vermeulen A.N., Sondermeijer P.J. // *Acta Virol.* - 1999. - 43 - 192-197 p.
4. Dalloul R.A. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis/ Dalloul R.A., Lillehoj H.S. // *Avian diseases* - 2005. - 49 - 1-8 p.
5. Dalloul, R.A. In ovo administration of CpG oligodeoxynucleotide and the recombinant microneme protein MIC2 protects against *Eimeria* infections/ Dalloul R.A., Lillehoj H.S., Klinman D.M., Ding X., Min W., Heckert R.A., Lillehoj E.P.// *Vaccine* - 2005. - 23 - 3108-3113 p.
6. Dibner, J., Safety and efficacy of Advent® coccidiosis vaccine/ Dibner, J., Quiroz, M. A., Knight, C. D.// IXth International coccidiosis conference - 2005.
7. Ding, X., In ovo vaccination with the *Eimeria tenella* EtMIC2 gene induces protective immunity against coccidiosis/ Ding X., Lillehoj H.S., Dalloul R.A., Min W., Sato T., Yasuda A., Lillehoj E.P.// *Vaccine* 2005. - 23 - 3733-3740 p.
8. Tewari, A.K., Recombinant surface antigen 2 (SAG 2) based serodetection of toxoplasmosis in cattle/ Tewari A.K., Singh H., Sudan V., Rao J.R.// In: Proceedings of XX national congress of veterinary parasitology - 2010. - 42 p.
9. Williams, R. B. Review article. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. *Avian Pathology*, 2002. - 31 - 317-353p.
10. Williams, R.B. Comparison of an attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial drug programme in commercial broiler chickens in Italy/ Williams, R.B. & Gobbi, L.// *Avian Pathology* -2002. - 31, 253-265p.
11. Xie, H. CpG-induced immunomodulation and intracellular bacterial killing in a chicken macrophage cell line/ Xie, H., R. B. Raybourne, U. S. Babu, H. S. Lillehoj, and R. A. Heckert// *Dev. Comp. Immunol* - 2003. - 27 - 823-834 p.