

**Заключение.** При гистологическом исследовании печени больных эймериозом кроликов и интенсивности инвазии *E. perforans* - 10, *E. magna* - 12, *E. stiedae* - 16 ооцист в 1г фекалий отмечали: крупные желчные протоки печени содержали желчные тромбы, отдельные части печени в состоянии белково-жирового детрита, отмечался коагуляционный некроз, атрофия гепатоцитов, что свидетельствовало о наличии билиарного и атрофического цирроза печени.

#### **Литература**

1. Манжос О.Ф.; Передера О.О.; Литвиненко О.П. *Еймериоз кролів: методичні рекомендації* / О.Ф. Манжос, О.О. Передера, О.П. Литвиненко. – Полтава. – 2008. – 29 с. 2. Калашник О.В. Проблемы восстановления кролиководства в Украине / О.В. Калашник, Н.В. Омельченко // Кролиководство и звероводство. – 2004. – №4. – С. 30. 3. Потоцький М. Кокцидіози ссавців (*Coccidiosis mammalium*) / Микола Потоцький // Ветеринарна медицина України. – 2007. – №3. – С. 24-26. 4. Манжос О.Ф., Панікар І.І. Ветеринарна протозоологія. – Навчальний посібник. Полтава, 2006. – 144 с. 5. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології: Навчальний посібник. — Житомир: Полісся, 2005. — 288 с.

УДК: 619:615.371:616.98:578.823.9:579.842.11

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И КОЛИБАКТЕРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Красочко П.А., Ломако Ю.В.**

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского» г. Минск, Республика Беларусь

**Яромчик Я.П.**

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

*Определение оптимальной иммунизирующей дозы вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота / П.А. Красочко, Ю.В. Ломако, Я. П. Яромчик. Оптимальная доза ротавирусного антигена с инфекционным титром 6,5 Ig ТЦД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> для крупного рогатого скота составляет 2,0 см<sup>3</sup>. Оптимальная доза для каждого адгезивного штамма *E.coli* K99, K88 и A20 составляет 2,5 млрд. бактериальных клеток в 1,0 мл.*

*THE DETERMINATION OPTIMUM IMMUNIZING DOSE OF THE VACCINE AGAINST ROTAVIRUS INFECTION AND COLIBACILLOSIS*

*CATTLE / P.A. Krasochko, U.V. Lomako, Y.P. Yaromchyk. The Optimum dose rotavirus antigen with infectious titre  $6,5 \lg TCID_{50/sm^3}$  for large horned live-stock forms  $2,0 sm^3$ . The optimum dose for each adhesive strains E.coli F4, F5 and Att25 forms 2,5 milliard bacterial cells in  $1,0 sm^3$ .*

**Введение.** Одними из наиболее распространенных болезней новорожденного молодняка крупного рогатого скота являются ротавирусная инфекция и колибактериоз.

В последние годы данные болезни крупного рогатого скота превратились в серьезную экономическую проблему во многих государствах мира с развитым животноводством, в том числе и в Республике Беларусь [1, 7].

Протекание ротавирусной инфекции и колибактериоза в ассоциации иногда достигает до 41,8 % случаев, при этом летальность телят достигает 70% [1, 3].

Вакцинация глубокоствельных коров приводит к созданию у полученного от них молодняка стойкого колюстрального иммунитета при выпойке новорожденным телятам иммунного молозива в первые часы жизни. Антитела, полученные с молозивом коров-роениц, обеспечивают защиту новорожденных телят от болезней до тех пор, пока у них не разовьются собственные механизмы иммунитета. Телята, полученные от иммунизированных матерей, устойчивы к колибактериозу и ротавирусной инфекции, так как молозивные антитела заполняют возможные места колонизации антигенов, блокируют способность патогенных штаммов прикрепляться и размножаться в тонком кишечнике [8].

В настоящее время разработаны и достаточно эффективно используются ряд моно- и ассоциированных вакцин против ротавирусной инфекции и колибактериоза телят, однако ассоциированной вакцины против указанных болезней крупного рогатого скота в Республике Беларусь не разработано, поэтому значительную часть применяемых вакцин продолжают импортировать [4, 5].

При разработке биопрепаратов против колибактериоза следует учитывать, что изменение эпизоотологической ситуации определяет необходимость предъявления новых требований к показателям, характеризующим состав и свойства вакцинных препаратов.

В большинстве случаев от вынужденно убитых и павших телят выделяют энтеротоксигенные штаммы эшерихий с адгезивными антигенами, входящими в диагностический набор: A20, K88, K99 и реже F41 и P987.

Адгезивные антигены – белки - pili, находящиеся на поверхности бактериальной клетки, ответственны за распознавание участков-рецепторов и прикрепление бактерий к энтероцитам тонкого кишечника. В развитии инфекционного процесса при колибактериозе они инициализируют колонизацию бактерий, выработку экзотоксинов и проявление клинических признаков болезни [2, 3, 6].

Существующие корпускулярные вакцины против колибактериоза изготавливают из бактериальной массы эшерихий, выращенной без учета протективной характеристики компонентов клетки возбудителя. Реакторное культивирование эшерихий до стационарной фазы роста бактерий проводится без учета определения максимального уровня специфической активности и сохранения этой активности [4, 6].

Кроме того, при проведении вакцинации животным вводят достаточно значительное количество антигенного компонента. Так, в одной иммунизирующей дозе содержится от 60 до 150 млрд. бактериальных клеток [4, 5].

Высокая концентрация антигенов в биопрепарате не всегда приводит к желаемому результату, так как в данных случаях возникает значительная антигенная нагрузка на организм и иммунную систему животных, проявляясь местными реакциями на вводимый объем антигена, повышением общей температуры тела, снижением продуктивности. Отсутствие корреляции между уровнем иммунной защиты и содержанием в вакцинах антигена делает дискутабельным предложение о их достаточно широком использовании [6].

Указанная актуальность и недостатки применяемых в настоящее время биопрепаратов послужили основанием для проведения ряда исследований, посвященных разработке и усовершенствованию конструирования и применения ассоциированной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота.

Принципиально новым этапом разработки явилось направление по уменьшению количества антигенной нагрузки на иммунную систему животных за счет снижения количества вводимого при вакцинации антигена.

Цель работы – определение оптимальной дозы ассоциированной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота при ее конструировании и применении.

**Материалы и методы.** Экспериментальная работа проводилась в ЗАО «Липовцы» Витебского района и СПК «Ставокский» Пинского района Брестской области. В ЗАО «Липовцы» коровам опытной группы в количестве 10 голов вводили экспериментальный образец разработанной вакцины № I, в котором концентрация инактивированных бактериальных клеток составляла 10 млрд. м.т. в 1 мл. В качестве адьюванта использовали «Emulsigen», в количестве 10% от общего объема антигена. Вакцину вводили внутримышечно в область крупы в объёме 5,0 см<sup>3</sup>, двукратно, с интервалом в 21 день. Была сформирована группа контроля (n=10).

В условиях СПК «Ставокский» было взято 30 коров, из которых сформировали 3 группы по 10 голов в группе. Коровам опытной группы №1 (n=10) вводили образец вакцины №II, где концентрация инактивированных бактериальных клеток составляла 5 млрд. м.т. в 1 мл. Животных опытной группы №2 (n=10) иммунизировали образцом вакцины

№III, где концентрация бактериальных клеток составляла 2,5 млрд. м.т. в 1 мл. Остальные животные являлись группой контроля.

При конструировании вышеописанных образцов вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота инфекционный титр ротавирусов составлял  $6,5 \lg \text{ТЦД}_{50/\text{мл}}$ .

Инактивацию ротавирусного компонента проводили 0,2% раствором теотропина, а для инактивации бактериальных компонентов использовали его 0,1 % раствор.

При конструировании биопрепаратов применяли следующее соотношение монокомпонентов – 2:1:1:1 – две части ротавируса и по одной части *E.coli* A20, *E.coli* K99 и *E.coli* K88 соответственно.

При изготовлении вакцины в качестве адьюванта использовали водно-масляный адьювант «Emulsigen», в количестве 10% от общего объема. Полученный биопрепарат вводили внутримышечно, в область крупа, в объёме 5,0 см<sup>3</sup>, двукратно, с интервалом в 21 день.

За животными было установлено клиническое наблюдение в течение 45 дней. О реактогенности вакцины судили по наличию местной реакции и по изменению общего состояния организма животных. Для контроля биосинтеза специфических антител от животных опытных и контрольных групп была взята кровь до иммунизации, через 21 и на 45 день после вакцинации.

Сыворотки крови коров опытных и контрольных групп были подвержены серологическим исследованиям в РНГА и в РА на полистироловых планшетах с использованием стандартных диагностикумов.

Оценку результатов проводили с учетом интенсивности образования в сыворотках крови животных уровня специфических антител при введении экспериментального образца, где концентрация бактериальных клеток составляла 10 млрд/мл (образец № I), в сравнительном аспекте с таковым биопрепаратом, в котором концентрация бактериальных клеток была 5 млрд/мл (образец № II) и конструируемой вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота, где концентрация бактериальных клеток составляла 2,5 млрд/мл (образец № III).

**Результаты исследований.** Иммунизация стельных коров вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота в исследуемых дозах сопровождалась выраженным биосинтезом специфических антител в организме животных.

На рисунке 1 представлены результаты изучения динамики специфических антител в сыворотке крови коров 1-й опытной группы, принадлежащих ЗАО «Липовцы», при иммунизации образцом вакцины №I.

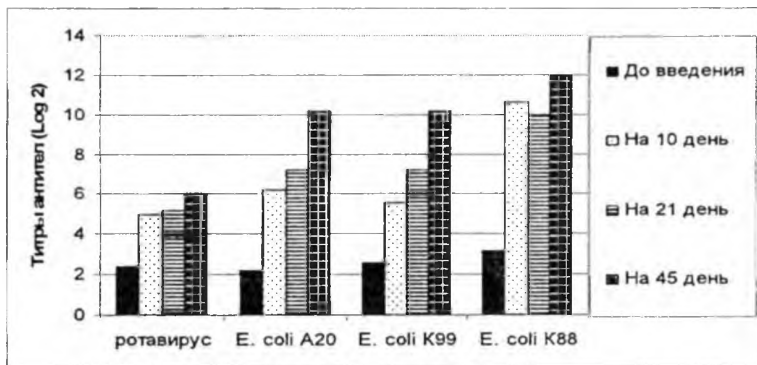


Рисунок 1 – Диаграмма, отображающая уровень специфических антител в сыворотках крови коров 1-й опытной группы

Иммунизация коров инактивированной вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота с концентрацией бактериальных клеток 10 млрд. в 1 мл вакцины приводит к образованию специфических антител к ротавирусу с  $2,4 \pm 0,24 \log^2$  до значения  $6,0 \log^2$ . В сыворотках крови коров опытной группы уровень специфических антител к E. coli A20 увеличился с  $2,2 \pm 0,2 \log^2$  до  $10,2 \log^2$ , к E. coli K99 – с  $2,6 \pm 0,24 \log^2$  до  $8,6 \pm 0,51 \log^2$ , а к E. coli K88 – с  $3,2 \pm 0,2 \log^2$  до  $12,0 \pm 0,54 \log^2$ .

На рисунке 2 представлены результаты изучения динамики специфических антител в сыворотке крови коров, принадлежащих СПК «Ставокский», при иммунизации их образцом вакцины №II, в объеме  $5,0 \text{ см}^3$ .

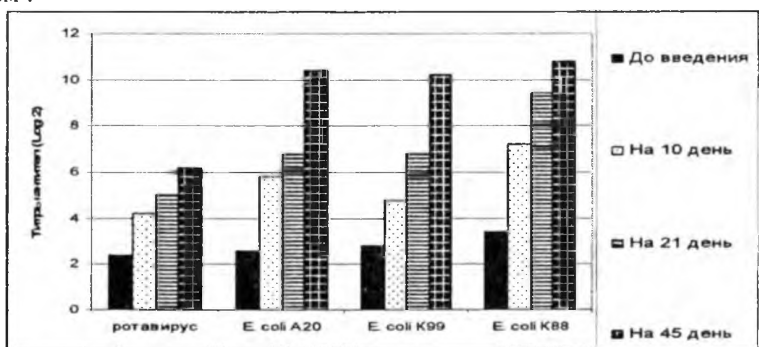


Рисунок 2 – Диаграмма, отображающая уровень специфических антител в сыворотках крови коров при вакцинации образцом вакцины №II

Исходя из полученных результатов серологических исследований сывороток крови коров, вакцинированных образцом вакцины №II с концентрацией бактериальных клеток 5,0 млрд/мл, установлен достоверный прирост специфических антител к ротавирусу с  $2,4 \pm 0,2 \log^2$  до значения  $6,2 \pm 0,2 \log^2$ . В сыворотках крови вакцинированных коров уровень специфических антител к E. coli A20 достиг значения с  $2,6 \pm 0,2 \log^2$  до  $10,4 \pm 0,2 \log^2$ , к E. coli K99 – с  $2,8 \pm 0,37 \log^2$  до  $10,2 \pm 0,2 \log^2$ , а к E. coli K88 – с  $3,4 \pm 0,4 \log^2$  до  $10,8 \pm 0,3 \log^2$ .

На рисунке 3 представлены результаты изучения динамики специфических антител в сыворотке крови коров, принадлежащих СПК «Ставокский», при иммунизации их образцом вакцины №III в объеме  $5,0 \text{ см}^3$ .

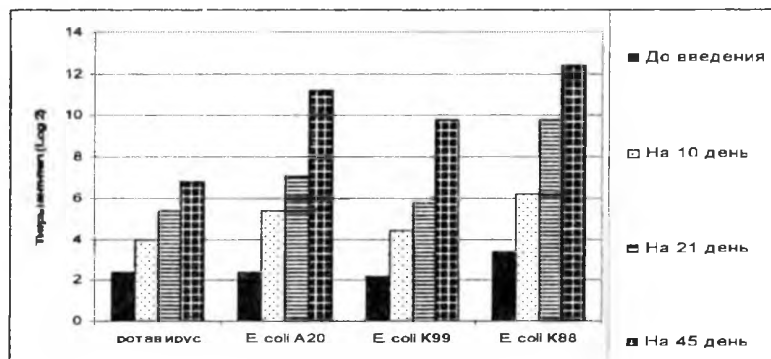


Рисунок 3 – Диаграмма, отображающая уровень специфических антител в сыворотках крови коров при вакцинации образцом вакцины №III

Результаты серологических исследований сывороток крови коров, вакцинированных образцом вакцины №III с концентрацией бактериальных клеток 2,5 млрд/мл указывают на достоверный прирост специфических антител к ротавирусу с  $2,4 \pm 0,2 \log^2$  до значения  $6,8 \pm 0,4 \log^2$ . В сыворотках крови вакцинированных коров уровень специфических антител к E. coli A20 достиг значения с  $2,4 \pm 0,22 \log^2$  до  $11,3 \pm 0,24 \log^2$ , к E. coli K99 – с  $2,2 \pm 0,4 \log^2$  до  $9,8 \pm 0,4 \log^2$ , а к E. coli K88 – с  $3,4 \pm 0,4 \log^2$  до  $12,4 \pm 0,33 \log^2$ .

У животных группы контроля отмечены незначительные, статистически недостоверные колебания уровня антител в сыворотках крови.

При введении образцов вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота при применении масляного адьюванта «Emulsigen» в объеме  $5,0 \text{ см}^3$  изменений в общем состоянии и на месте введения биопрепарата не обнаружено.

**Заключение.** Из представленных данных видно, что иммунизация коров экспериментальными образцами вакцины, с концентрацией бактериальных клеток 10 млрд/мл, и биопрепаратов с концентрацией бактериальных клеток в количестве 5,0 и 2,5 млрд/мл приводит практически к аналогичным показателям гуморального иммунного ответа у вакцинированных животных.

Согласно полученным результатам гуморального иммунного ответа оптимальная доза для ротавирусного антигена с инфекционным титром 6,5 lg ТЦД<sub>50/см<sup>3</sup></sub> для крупного рогатого скота составляет 2,0 см<sup>3</sup>. Для каждого адгезивного штамма E.coli K99, K88 и A20, с концентрацией бактериальных клеток 2,5 млрд/мл, оптимальная доза составляет 1,0 см<sup>3</sup>.

### **Литература**

1. Зелютков, Ю.Г. Вирусно-бактериальный мониторинг ассоциативных инфекций у новорожденных телят / Ю.Г. Зелютков // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : материалы Международной научно-практической конференции : сб. науч. тр. / под ред. В.К. Пестиса. – Гродно : ГГАУ, 2006. – Т. 3. – С. 204–207.
2. Серотипизация циркулирующих культур E. coli сельскохозяйственных животных – основа конструирования средств специфической профилактики колибактериоза молодняка / Н.Н. Андросик [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии», посвященной 80-летию основания учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» г.Витебск, 4-5 ноября 2004. – Витебск, 2004. – Т. 40, ч. 1. – С. 167–168.
3. Скибицкий, В.Г. Этиологическая структура массовых желудочно-кишечных, инфекционной природы, заболеваний новорожденных телят в хозяйствах Украины / В.Г. Скибицкий, С.Г. Ташута, А.В. Козловская // Ученые записки / ВГАВМ. – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. – С. 134–135.
4. Тугаринов, О.А. Средства и методы специфической профилактики, лечения и диагностики эшерихиоза животных : автореф. дис. ... д-ра вет. наук / О.А. Тугаринов. – Москва, 1999. – 45 с.
5. Хитрова, А.Е. Новые препараты для специфической профилактики смешанных инфекционных болезней телят / А.Е. Хитрова, Г.Л. Соболева, Т.И. Алипер // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2005. – № 1. – С. 23–24.
6. Dobilas, J. Epizootic investigations of colibacteriosis on farms and development of vaccine / J. Dobilas, L. Barzelis // Vet. Med. and Zootech. (Lithuania) / Sc. Works. – 1997. – Vol. 4, № 26. – P. 22–24.
7. Müller, H. Rotaviruses : diversity and zoonotic potential-a brief review / H. Müller, R. Johne // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – 2007. – Vol. 120, № 3/4. – P. 108–112.
8. Passive immunity in calf rotavirus infections: maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin G1 antibody secretion in milk / D.R. Snodgrass [et al.] // Journal of Virology. – 2006. – Vol. 80, № 10. – P. 4949–4961.