

**Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, профессор\***

**Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, доцент\***

**Синицкий В.В., ветеринарный врач\*\***

*\*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского»*

*\*\*УО «Гродненский государственный аграрный университет»*

## **ИММУННЫЙ ОТВЕТ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПОСЛЕ**

*Приведены результаты разработки бивалентной инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. Показано, что введение биопрепарата животным способствует активизации иммунной системы и выработке противовирусных антител в достаточно высоких титрах, приводит к созданию напряженного колострального иммунитета у новорожденных телят, полученных от вакцинированных коров и способствует предохранению животных от заболевания.*

*The results of working out bivalent inactivated vaccine against bovine herpesvirus and a viral diarrhoea of livestock are given. It is showed, that the administration of the biological preparation to animals promotes activization of immune system and production of high antiviral antibody titers, leads to creation of intensive colostral immunity at the newborn calves received from vaccinated dams and promotes the protection of animals from disease.*

### **ИММУНИЗАЦИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ ВВЕДЕНИЕ**

Широкое распространение инфекционных заболеваний, особенно респираторных и желудочно-кишечных инфекций крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах приводит к значительному экономическому ущербу, который складывается с высокой заболеваемости животных, непроизводительного выбытия, снижения продуктивности.

В этиологической структуре вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций крупного рогатого скота наиболее часто основную роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита (ИРТ) и диареи (ВД) /2, 5, 6, 10/. В этой связи проведение иммунизации животных против данных инфекций является одной из действенных мер по предупреждению возникновения заболевания. В настоящее время в Республике Беларусь успешно применяются моно-, би- и поливалентные живые и инактивированные вакцины против ИРТ, ВД, рота- и коронавирусной инфекций /4, 7, 8/. Однако биологической промышленностью республики не налажен их выпуск. В этой связи нами проведены исследования по конструированию бивалентной инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. Вакцина предназначена для иммунизации стельных коров и телят. После иммунизации создается стойкий колостральный иммунитет у новорожденных телят, полученных от иммунизированных коров, а также напряженный иммунитет после иммунизации телят /8/.

Целью настоящего исследования является изучение поствакцинального иммунитета у коров, иммунизированных бивалентной инактивированной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования были проведены в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского», виварии института, животноводческих хозяйствах Гродненской области.

На первом этапе исследований изучали иммунный ответ крупного рогатого скота на введение различных доз монокомпонентов вакцины - вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи. Для отработки оптимальных доз монокомпонентов было сформировано

7 групп коров по 10 голов в группе. Перед конструированием бивалентной вакцины доводили титр каждого из монокомпонентов до 6,5 lg ТЦД 50/мл. Опытным животным вводили инактивированные компоненты вакцины с адьювантами в различных дозах двукратно с интервалом в 21 день. За коровами проводили наблюдение на протяжении опыта. Для исследования поствакцинального иммунитета осуществляли взятие крови до иммунизации, на 21 и 45 день после иммунизации. В крови у коров изучался титр противовирусных антител в РНГА /2,6,7/.

В целях отработки оптимального соотношения монокомпонентов вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи при конструировании бивалентной инактивированной вакцины за основу были взяты монокомпоненты с инфекционным титром 6,5 lg ТЦД 50/мл. Из коров было сформировано 4 группы 10 животных в каждой. Коровам первых 3 групп вводили внутримышечно различные соотношения монокомпонентов образца поливалентной вакцины двукратно с интервалом в 21 день. Соотношение компонентов обрабатывали по схеме: ИРТ:ВД: опытная группа № 1 - 1:1; группа № 2 – 1:2,5; группа № 3 – 2,5:1; группа № 4 - – контроль.

Для исследования поствакцинального иммунитета осуществляли взятие крови до иммунизации, на 21 и 45 день после иммунизации.

Влияние бивалентной вакцины на клеточный, гуморальный иммунитет и обмен веществ было изучено на 10 коровах в возрасте 3-5 лет на 7-8 месяце стельности. Животных разделили на 2 группы по 5 голов в каждой. Коров опытной группы обрабатывали бивалентной вакциной внутримышечно в области крупа в дозе 10 мл двукратно с интервалом 14-21 день. Коровам контрольной группы вводили по 10 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. За обработанными животными было установлено клиническое наблюдение в течение 90 дней, которое включало: термометрию, исследование общеклинических показателей, учет реакции на месте введения вакцины, а также поедаемость кормов и продуктивность. Взятие крови для определения иммунологических показателей осуществляли до введения вакцины, затем на 10, 21, 30, 45 и 60 сутки после вакцинации.

В крови изучали показатели гуморального иммунитета - динамику общего белка, альбуминов глобулинов по общепринятым методикам /1, 3/.

В связи с тем, что вакцинации подвергаются стельные коровы, нами изучена динамика титров колостральных антител у телят, полученных от вакцинированных коров. Для этого у них брали кровь до приема молозива, через 12, 24 и 48 часов, после выпойки молозива.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием персонального компьютера и программы Excel по критерию знаков при уровне достоверности 95%. /9/

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В предварительных опытах по подбору компонентов вакцины, были выделены, идентифицированы и задепонированы штаммы следующих вирусов: инфекционного ринотрахеита - КМИЭВ-6, диареи КМИЭВ-7, Вирусы ИРТ и ВД культивировали на перевиваемой культуре клеток МДБК. При изучении влияния различных инактивантов на вирусы установлено, что оптимальным адьювантом служил теотропин (1,8,3,6-диэндометилен-1,3,6,8- тетраазациклодекан), который представляет собой порошок белого или желтовато-белого цвета, кисловатого вкуса, без запаха, хорошо растворим в воде, спирте, хлороформе, не растворим в эфире, не летуч, малотоксичен. При подборе различных адьювантов в вакцине оптимальным оказался эмульсиген в 10% концентрации.

При конструировании бивалентной инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота были отработаны оптималь-

ные дозы компонентов вирусов на коровах. В таблице 1 представлены результаты исследований по отработке оптимальных доз инактивированных монокомпонентов вирусов инфекционного ринотрахеита и диареи.

Таблица 1 - Результаты исследований по отработке оптимальных доз инактивированных монокомпонентов вирусов инфекционного ринотрахеита и диареи

Группы животных	Вирусы	Доза монокомпонента (при титре 6,5lgТЦД 50/мл),мл	Титр антител в РНГА (log <sub>2</sub> )		
			До иммунизации	Через 21 день	Через 45 дней
Опытная группа № 1	Инфекционный ринотрахеит	1	1,8±0,3	2,5±0,4	3,3±0,4
Опытная группа № 2		2,5	2,1±0,2	2,9±0,2	5,5±0,6
Опытная группа № 3		5	2,0±0,1	3,2±0,3	5,6±0,4
Опытная группа № 4	Вирусная диарея	1	1,9±0,1	2,8±0,2	3,7±0,3
Опытная группа № 5		2,5	2,0±0,2	3,1±0,4	4,8±0,2
Опытная группа № 6		5	2,1±0,1	3,3±0,4	4,9±0,4
Контрольная группа	Инфекционный ринотрахеит	-	2,1±0,2	2,2±0,3	2,0±0,3
	Вирусная диарея	-	2,0±0,1	1,8±0,2	2,1±0,1

Представленные данные показывают, что оптимальной дозой монокомпонентов при инфекционном титре 6,5 lg ТЦД 50/мл является 2,5-5 мл на корову. Это дает максимальное возрастание титров антител после введения монокомпонентов вакцины.

В таблице 2 представлены средние титры противовирусных антител в опыте по отработке оптимального соотношения монокомпонентов в поливалентной инактивированной вакцине против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи.

Таблица 2- Средние титры антител к вирусам инфекционного ринотрахеита и диареи в опыте по отработке оптимального соотношения монокомпонентов в инактивированной вакцине

Группы	Титр антител в РНГА к вирусам, log <sub>2</sub>					
	ИРТ			ВД		
	До иммунизации	Через 21 день	Через 45 дней	До иммунизации	Через 21 день	Через 45 дней
Группа № 1	1,0±0,2	1,7±0,21	4,0±0,22	0,8±0,15	2,3±0,20	3,3±0,22
Группа № 2	1,0±0,15	1,3±0,18	3,6±0,24	0,8±0,11	2,0±0,21	3,0±0,26
Группа № 3	0,8±0,18	1,0±0,19	3,0±0,23	1,0±0,19	1,5±0,22	3,0±0,28
Контрольная группа	0,8±0,10	1,0±0,12	0,8±0,20	1,0±0,09	0,8±0,12	1,0±0,16

Из представленных данных можно сделать вывод, что доза монокомпонентов ИРТ и ВД должна быть 2,5 мл при инфекционном титре вирусов и соотношении 1:1. При этом титры антител практически на 0,5-1,0 log<sub>2</sub> выше, чем у животных, получавших другие соотношения вакцины вакцины.

После обработки различными дозами и соотношениями монокомпонентов бивалентной вакцины изменений в клиническом состоянии животных не установлено. Аппетит был сохранен, продуктивность коров не снижалась. На месте введения компонентов болезненность и воспалительная реакция не определялась.

Таблица 3 - Количество общего белка, альбуминов в глобулинов в сыворотке крови коров после вакцинации бивалентной вакциной

Дни обследования	Группы животных	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л	Альбумин/глобулиновое отношение
До иммунизации	Опытная группа	67,52±1,14	24,45±0,81	42,31±2,1	0,57±0,022
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034
Через 10 дней	Опытная группа	66,15±2,04	25,04±0,85	41,11±2,33	0,61±0,047
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034
Через 21 день	Опытная группа	62,89±3,43	17,21±1,98*	45,68±2,82	0,37±0,05*
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034
Через 30 дней	Опытная группа	67,46± 3,38	16,47±1,06***	50,98±3,1	0,32±0,04**
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034
Через 45 дней	Опытная группа	58,2± 2,7*	13,01±0,36***	45,19±2,6	0,29±0,02***
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034
Через 60 дней	Опытная группа	73,89±2,92	17,81±1,5**	56,08±3,95*	0,32±0,04**
	Контрольная группа	67,81±2,38	24,48±0,94	43,32±2,4	0,57±0,034

Примечание: \* - P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,01.

Данные, представленные в таблице 4, свидетельствуют о высоком уровне биосинтеза антител-иммуноглобулинов (достоверное повышение уровня глобулинов на 60 день после вакцинации), и, в то же время, о некотором снижении уровня альбуминов на 21, 30 и 45 дни исследования, свидетельствующем о перераспределении синтеза альбуминов на глобулины.

Проведенные исследования по изучению биосинтеза антител на введение монокомпонентов бивалентной вакцины показали, что каждый из компонентов способствует активной выработке противовирусных антител. Поэтому нами изучалась динамика поствакцинальных антител у коров, вакцинированных бивалентной инактивированной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи

В таблице 4 представлены результаты изучения динамики поствакцинальных антител у коров вакцинированных бивалентной вакциной.

Таблица 4 - Результаты изучения поствакцинальных антител к вирусам инфекционного ринотрахеита и диареи у коров, вакцинированных бивалентной инактивированной вакциной

Вирус	Группы животных	Дни обследования				
		до вакцинации	через 14 дней	через 28 дней	через 45 дней	через 60 дней
Инфекционного ринотрахеита	Опытная группа	2,0±0,30	2,1±0,22	3,6±0,12	4,3±0,25	4,6±0,35
	Контрольная группа	1,8±0,25	2,0±0,14	2,1±0,25	2,2±0,18	2,4±0,24
Диареи	Опытная группа	3,2±0,19	4,2±0,15	4,3±0,18	4,7±0,25	5,6±0,44
	Контрольная группа	3,0±0,25	3,2±0,22	3,2±0,28	3,3±0,28	3,5±0,28
	Контрольная группа	2,3±0,17	2,2±0,11	2,4±0,26	2,5±0,17	2,4±0,16

Полученные результаты свидетельствуют о том, что вакцинация коров бивалентной инактивированной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи способствует существенному биосинтезу противовирусных антител к вышеуказанным вирусам.

Сконструированная бивалентная инактивированная вакцина при введении животным способствует выработке противовирусных антител у животных, создавая напряженный по-

ствакцинальный иммунитет у иммунизированных животных. Но наряду с этим, введение вакцины глубокостельным коровам предусматривает повышения уровня антител в молозиве и в дальнейшем – создание стойкого колострального иммунитета у новорожденных телят, которые получили полную порцию молозива от вакцинированных коров.

В таблице 5 представлены результаты изучения колострального иммунитета у новорожденных телят, полученных от вакцинированных коров.

Контроль формирующегося у новорождённых телят колострального иммунитета осуществляли путём исследования проб сыворотки крови в РНГА. Сыворотку крови получали от новорожденных телят до приема молозива, через 12, 24 и 48 часов после его выпойки.

Таблица - 5 Динамика антител в сыворотке крови телят, полученных от иммунизированных бивалентной инактивированной вакциной коров

Возбудитель	Сроки отбора проб крови	Титр антител в РНГА
Инфекционный ринотрахеит	До приема молозива	-
	Через 12 часов	1:512
	Через 24 часов	1:512
	Через 48 часов	1:512
Вирусная диарея	До приема молозива	-
	Через 12 часов	1:1024
	Через 24 часов	1:1024
	Через 48 часов	1:1024

Из таблицы видно, что при условии выпойки в течение первых 2 часов молозива от матерей, иммунизированных бивалентной инактивированной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи у телят формируется напряженный колостральный иммунитет, способствующий защите организма теленка от вышеуказанных инфекций. При исследовании уровня антител с помощью РНГА, их титр через 12 часов после рождения составлял 1:512-1:1024 и оставался на этом уровне на протяжении всего срока наблюдения. Наличие колостральных антител свыше 1:128 способствует предохранению телят от заболевания энтеритами инфекционной этиологии.

Проведенные исследования по разработке бивалентной инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота показали, что введение биопрепарата животным способствует активизации иммунной системы и выработке противовирусных антител в достаточно высоких титрах, приводит к созданию напряженного колострального иммунитета у новорожденных телят, полученных от вакцинированных коров и способствует предохранению животных от заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов, С.С. Методические указания по определению естественной резистентности и путях ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных: метод. указания / Витебский вет. институт; авт. сост. С.С. Абрамов, А.Ф. Могиленко, А.И. Ятусевич. - Витебск, 1989. – С. 16 - 20.
2. Болезни крупного рогатого скота и овец // П.А.Красочко, З.Д.Джамбулатов, К.Б.Курбанмагомедов, И.А.Красочко и др. Махачкала, 2007 - 657 с.
3. Горячковский, А.М. Справочное пособие по клинической биохимии – Одесса: ОКФА, 1994. – С. 188–192.
4. Карышева, А.Ф., Даньшина М.С. Профилактика и меры борьбы с инфекционными болезнями животных в комплексах Молдавии.- Кишинев: Штиинца, 1983.- 192с.

5. Карышева, А.Ф., Карышев, С.В. Инфекционные болезни животных.- Кишнев: Картя Молдованяскэ, 1989.- С. 228-251.
6. Красочко, П.А., Новиков, О.Г., Ятусевич, А.И. и др. Болезни крупного рогатого скота и свиней / Под общ. ред. П.А. Красочко.- Минск: Технопринт, 2003.- 464 с.
7. Красочко, П.А., Ястребов, А.С., Новиков, О.Г. и др. Инфекционные и инвазионные заболевания молодняка животных. - Смоленск, 2001.- 352 с.
8. Красочко, П.А., Ламац, А.М. Научные основы изучения этиологии, патогенеза и разработка мер борьбы с вирусными инфекциями молодняка крупного рогатого скота // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. Минск, № 3, 2006. – С. 3-8
9. Сюрин, В.Н., Самуйленко, А.Я. и др. Вирусные болезни животных.- М.: ВНИИ-ТИБ., 1998.- 928 с.