

Красочко П.А.
Ломако Ю.В.
Борисовец Д.С.
Жих Г.И.
Иванова И.П.
Карпович В.К.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОТРАБОТКЕ СООТНОШЕНИЙ КОМПОНЕНТОВ В ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЕ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ, КЛЕБСИЕЛЛЕЗА, РОТАВИРУСНОЙ И ПРОТЕЙНОЙ ИНФЕКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА.

Приведены результаты опытов по отработке соотношений компонентов инактивированной вакцины против вирусной диареи, клебсиеллеза, ротавирусной и протейной инфекций крупного рогатого скота. Установлено, что наиболее оптимальным соотношением монокомпонентов вакцины является следующее: вирус диареи и ротавирус по 2,5 части, клебсиелл и протей – по 1 части. Доза препарата на одно введение составляет 7,0 мл на голову двукратно с интервалом 21 день.

The results of experimental of working of the ratio of components of inactivated vaccine against virus diarrhea, clebsiella, rotavirus and proteus infection of cattle are represented. It was established that the most optimal ratio of monocomponents is the same: virus of diarrhea and rotavirus - 2,5 parts of each virus; clebsiella and proteus - 1,0 parts of each bacteria. The dose of biopreparation for one time is 7,0 ml/head twice the interval 21 days.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема смешанных инфекций желудочно-кишечного тракта приобретает в последнее время чрезвычайную актуальность в связи с возрастающей частотой выявления этой патологии. Особенное значение имеет эта проблема при заболеваниях желудочно-кишечного тракта новорожденных телят.

Выраженная полиэтиологичность, одновременная широкая циркуляция возбудителей вирусной и бактериальной природы во внешней среде, возможность раннего инфицирования, а также незрелость иммунной системы новорожденного создают весьма благоприятные условия для формирования смешанных инфекций [4].

Среди инфекционных агентов, вызывающих патологию желудочно-кишечного тракта, основную роль играют: вирус диареи, рота-, коронавирусы, патогенные штаммы *E.coli*, клебсиеллы, протей и др., а также их ассоциации. Синергическое взаимодействие вирусов, бактерий и простейших на фоне стресс-факторов и пониженной резистентности организма телят, приводит к развитию тяжело протекающих гастроэнтеритов, сопровождающихся значительным отходом животных [2]. Воздействие нескольких инфекционных агентов на организм животного является чрезвычайно сложным новым процессом, который не может быть выражен простым суммированием признаков, характерных для каждой из составляющих его моноинфекций [3].

Существующие в настоящее время средства специфической профилактики базирующиеся, в основном, на применении моновакцин для иммунизации глубокостельных коров с целью создания у новорожденных телят колострального иммунитета. Кроме того, применение моновакцин не позволяет формировать иммунитет против нескольких возбудителей желудочно-кишечных заболеваний [2].

Со смешанными инфекциями, как утверждает Мауг (1984), нельзя бороться

только классическими методами, так как трудно определить ведущую роль того или иного инфекционного агента, поэтому для профилактики таких болезней должны быть разработаны комбинированные вакцины, с функционально синергическим действием как вирусных, так и бактериальных компонентов [1, 5].

Цель настоящей работы - определение оптимального соотношения монокомпонентов вируса диареи, ротавируса, клебсиелл и протей при конструировании инактивированной поливалентной вакцины для профилактики вирусно-бактериальных энтеритов телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для отработки на крупном рогатом скоте оптимального соотношения монокомпонентов инактивированной поливалентной вакцины против вирусной диареи, протейоза, ротавирусной и клебсиеллезной инфекций исследования проводились на базе СПК «Острошицы» Логойского района Минской области.

Основным объектом исследований были стельные коровы и нетели. Для проведения опыта было сформировано 10 групп животных по 7-10 голов в группе. Животным опытных групп вводили в различных соотношениях и дозах монокомпоненты вакцины двукратно с интервалом в 21 день.

За обработанными животными было проведено клиническое наблюдение в течение всего опыта. При этом проводили термометрию, исследовались общеклинические показатели, реакция на месте введения вакцины, состояние поедаемости кормов, продуктивность.

Для проведения серологических исследований у коров была взята кровь до иммунизации и через 45 дней после первичной иммунизации. В полученных сыворотках крови определяли титр противовирусных антител в РНГА и титр антибактериальных антител - в РА.

Постановку реакций осуществляли по общепринятым методикам. Проводимые серологические исследования сопровождали постановкой необходимых контролей.

Для изготовления компонентов вирусной диареи, ротавирусной инфекции при конструировании поливалентной вакцины были использованы следующие аттенуированные штаммы вирусов: вирусной диареи - КМИЭВ-7, ротавируса - КМИЭВ-3. Вирусы накапливали на перевиваемых культурах клеток МДБК и СПЭВ. Для приготовления компонентов вакцины из клебсиелл и протей штаммы их культивировали на агаровой питательной среде 24-48 часов. Инактивацию вирусных и бактериальных компонентов вакцины проводили с использованием теотропина в 0,1 - 0,2% концентрации.

В объединенные инактивированные компоненты вакцины внесли адьювант - эмульсиген в 10%-й концентрации и диспергировали в диспенсере.

Стерильность вакцины установили путем посева на МПБ, МПА, среду Сабуро и Китта-Тароцци в соответствии с ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Методы бактериологического контроля стерильности».

Безвредность и реактогенность монокомпонентов вакцины определили путем подкожного введения каждого компонента 10-ти белым мышам массой 18-20 г в дозе 0,2-0,3 мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

За время проведения опыта температура тела животных и другие общеклинические показатели были в пределах нормы, реакция на месте введения вакцины была незначительной либо вовсе отсутствовала. Состояние поедаемости кормов и показатели продуктивности не изменялись по сравнению с контрольной группой на протяжении всего опыта. При проведении серологических исследований установлено, что испытуемые образцы вакцины стимулировали выработку противовирусных и антибактериальных антител у животных опытных групп.

ИММУНОБИОЛОГИЯ

Результаты изучения титров антител сывороток крови коров опытных и контрольной группы представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Титры антител после введения вакцины против вирусной диареи, протеоза, ротавирусной и клебсиеллезной инфекций с разным соотношением монокомпонентов.

№ п/п	Соотношение	До- за, мл	Срок исследова- ния	Вирус диареи (ВД)	Ротави- рус (РВ)	Клебси- елла (КЛ)	Протей (ПР)
1	ВД:РВ:КЛ:ПР 1:1:1:1	4	До иммунизации	2,14±0,14	3,43±0,2	6,28±0,28	5,57±0,29
			Через 45 дней	2,8±0,2	4,4±0,4	9,8±0,37	7,4±0,6
2	ВД:РВ:КЛ:ПР 2,5:2,5:2,5:2,5	10	До иммунизации	2,28±0,18	3,28±0,18	6,14±0,34	6±0,38
			Через 45 дней	3,2±0,2	5,4±0,24	9,5±1,19	8,75±0,25
3	ВД:РВ:КЛ:ПР 5:5:5:5	20	До иммунизации	2,57±0,2	3±0,31	7,14±0,26	6,43±0,29
			Через 45 дней	3,5±0,29	5±0,58	11,3±0,67	9,33±0,33
4	ВД:РВ:КЛ:ПР 2,5:2,5:5:5	15	До иммунизации	2,71±0,18	2,71±0,18	5,86±0,3	5,43±0,29
			Через 45 дней	3,8±0,2	4,2±0,2	9,6±0,4	8,4±0,24
5	ВД:РВ:КЛ:ПР 5:5:2,5:2,5	15	До иммунизации	2,71±0,18	3,57±0,2	6,86±0,4	5,86±0,34
			Через 45 дней	3,67±0,33	6±0	11±0,58	9±0
6	ВД:РВ:КЛ:ПР 1:1:2,5:2,5	7	До иммунизации	2,28±0,18	3,43±0,2	6,86±0,4	6±0,38
			Через 45 дней	3,2±0,2	6±0,32	10,2±0,92	9±0,45
7	ВД:РВ:КЛ:ПР 2,5:2,5:1:1	7	До иммунизации	3±0,31	2,86±0,26	5,86±0,34	6,28±0,36
			Через 45 дней	5±0,41	5±0,41	9,25±0,75	9,75±1,11
8	ВД:РВ:КЛ:ПР 5:5:0:0	10	До иммунизации	3,43±0,2	2,86±0,34	-	-
			Через 45 дней	4,6±0,24	4,2±0,37	-	-
9	ВД:РВ:КЛ:ПР 0:0:5:5	10	До иммунизации	-	-	7±0,38	6,71±0,28
			Через 45 дней	-	-	11,4±0,6	11,4±0,24
Кон- троль	-	-	До иммунизации	2,43±0,2	3,14±0,14	7,43±0,2	5,57±0,29
			Через 45 дней	2,4±0,24	3,2±0,2	7,6±0,24	5,6±0,4

Исходя из полученных результатов установлено, что при введении монокомпонентов вакцины в соотношении 1:1:1:1 в дозе 4 мл на голову (опытная группа 1) прирост антител к вирусу диареи через 45 дней после первичной вакцинации составил $0,66 \log_2$ или 30,8%, к ротавирусу - $0,97 \pm 0,2 \log_2$ или 28,3%. Что касается бактериальных компонентов, то в данной группе титр антител к клебсиеллам стал выше на $3,52 \pm 0,09 \log_2$ или 35,9%, а к протею на $1,83 \pm 0,31 \log_2$ или 32,8% по отношению к уровню антител до иммунизации.

В опытной группе № 2 с соотношением монокомпонентов 2,5:2,5:2,5:2,5 в дозе 10 мл. на голову наблюдается повышение титров антител через 45 дней после первичной вакцинации к вирусу диареи на $0,92 \pm 0,02 \log_2$ или 40,3%, к ротавирусу - на $2,12 \pm 0,06 \log_2$ или 64,6%, к клебсиеллам - на $3,36 \pm 0,85 \log_2$ или 54,7%, к протею - на $2,75 \pm 0,13 \log_2$ или 45,8% по отношению к результатам, полученным до иммунизации.

В 3-ей опытной группе (соотношение 5:5:5:5, доза - 20,0 мл) в сыворотке кро-

ви коров количество противовирусных антител увеличилось к 45 дню, по отношению к уровню антител к вирусу диареи у животных до иммунизации, на $0,93 \pm 0,09 \log_2$ или на 36,2%, а к ротавирусу – на $2 \pm 0,27$ на 66,7%. Уровень антибактериальных антител к клебсиеллам возрос на $4,16 \pm 0,41 \log_2$ или 58,3%, к протее – на $2,9 \pm 0,04 \log_2$ или 45,1%.

У животных 4-ой опытной группы (соотношение 2,5:2,5:5:5, доза – 15,0 мл) отмечен биосинтез антител к вирусу диареи и выше показателей до иммунизации на $1,09 \pm 0,02 \log_2$ или 40,2%, к ротавирусу – на $1,49 \pm 0,02 \log_2$ или 55%, к клебсиеллам - на $3,74 \pm 0,06 \log_2$ или 63,8%, к протее – на $2,97 \pm 0,05 \log_2$ или 54,7%.

Прирост специфических антител в 5-ой опытной группе (соотношение 5:5:2,5:2,5, доза – 15,0 мл) составил на 45 день после первичной обработки: к вирусу диареи – на $0,96 \pm 0,15 \log_2$ или 35,4%, к ротавирусу – на $2,43 \pm 0,2 \log_2$ или 68,1%; к клебсиеллам и протее – на $4,14 \pm 0,18 \log_2$ или 60,3% и на $3,14 \pm 0,34 \log_2$ или 53,6% соответственно.

По отношению к показателям, полученным до иммунизации животных, титры антител на 45 день также возросли в 6-й и 7-й группах к вирусу диареи - на $0,92 \pm 0,02 \log_2$ или 40,3% и на $2 \pm 0,1 \log_2$ или 66,7%; к ротавирусу – на $2,57 \pm 0,12 \log_2$ или 75% и на $2,14 \pm 0,15 \log_2$ или 74,8%; к клебсиеллам - на $3,34 \pm 0,52 \log_2$ или 48,7% и на $3,39 \pm 0,41 \log_2$ или 57,8%; к протее – на $3 \pm 0,07 \log_2$ или 50% и на $3,47 \pm 0,75 \log_2$ или 55,2% соответственно.

У коров 8-й опытной группы, которым вводили образец вакцины, содержащий только компоненты вирусов, также наблюдался прирост противовирусных антител на $1,17 \pm 0,04 \log_2$ или 34,1% к вирусу диареи и на $1,34 \pm 0,03 \log_2$ или 46,8% к ротавирусу.

При введении образца вакцины, содержащего исключительно бактериальные компоненты 9-ой опытной группе, через 45 дней после первичного введения выявлено увеличение титра антибактериальных антител: к клебсиеллам - на $4,4 \pm 0,22 \log_2$ или 62,8%, к протее - $4,69 \pm 0,04 \log_2$ или 69,9%.

Что касается контрольной группы животных, которым вводили по 10 мл. изотонического раствора хлорида натрия, разницы в титрах антител до первичной иммунизации и через 45 дней практически не наблюдается.

На рисунке 1 представлены результаты изучения титров антител через 45 дней после первичной иммунизации для определения оптимального соотношения монокомпонентов вируса диареи, ротавируса, клебсиелл и протее при конструировании инактивированной поливалентной вакцины.

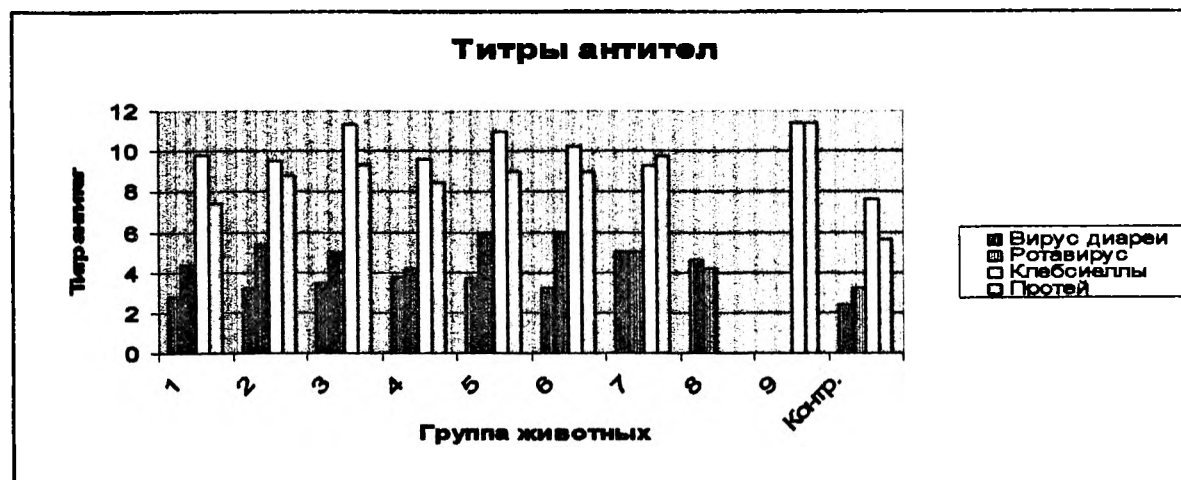


Рисунок 1 - Титры антител через 45 дней после первичной иммунизации коров для определения оптимального соотношения монокомпонентов вируса диареи, ротавируса, клебсиелл и протее.

ВЫВОДЫ

В результате проделанной работы мы пришли к выводу о том, что оптимальное соотношение монокомпонентов в экспериментальных образцах инактивированной поливалентной вакцины против вирусной диареи, протеоза, ротавирусной и клебсиеллезной инфекций представлено в образце вакцины при соотношении компонентов **ВД:РВ:КЛ:ПР - 2,5:2,5:1:1**. Таким образом наиболее оптимальным соотношением монокомпонентов вакцины является следующее соотношение: вирус диареи и ротавирус по 2,5 части, клебсиелл и протея – по 1 части. Доза препарата на одно введение составляет 7,0 мл. на голову двукратно с интервалом 21 день.

ЛИТЕРАТУРА

1. Апатенко, В.М. Смешанные инфекции сельскохозяйственных животных / В.М. Апатенко. - 2-е изд. – Киев: Урожай, 1990. – 176 с.
2. Головки, А.Н. Конструирование иммунизирующего препарата против рота-, коронавирусных инфекций и колибактериоза телят / А.Н. Головки [и др.] // Ветеринарна медицина 74: міжвідомчій темтичний науковий збірник. - Харків, 1998. - с. 196-201.
3. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят / Х.З. Гафаров [и др.] ; под ред. Х.З. Гафарова. - Казань: Фэн, 2002. - 55с.
4. Роль микроорганизмов (бактерий и вирусов) в возникновении желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят / Г.И. Григорьева [и др.] // Ветеринарная патология. – 2005. - № 4. - с. 108-113.
5. Хитрова, А.Е. Новые препараты для специфической профилактики смешанных инфекционных болезней телят / А.Е. Хитрова, Г.Л. Соболева, Т.Н. Алипер // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2005. - №1. - с. 23-24.