

Красочко П.А., профессор, доктор ветеринарных и биологических наук

Ломако Ю.В., кандидат ветеринарных наук

Яромчик Я.П., младший научный сотрудник

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

КОЛОСТРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У ТЕЛЯТ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ КОРОВ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И КОЛИБАКТЕРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

Двукратная вакцинация ассоциированной вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота стельных коров, при выпойке в первые часы жизни новорожденным телятам полученного от матерей молозива, позволяет установить в сыворотках крови молодняка уровень специфических антител к ротавирусу до значения $7,2 \pm 0,34 \log_2$. Уровень специфических антител к *E.coli* K99 в сыворотках крови телят, получивших молозиво в первые часы жизни достиг значения $9,2 \pm 0,28 \log_2$, к *E.coli* K88 – до $13,6 \pm 1,34 \log_2$, а к *E.coli* A20 до значения $10,3 \pm 0,24 \log_2$.

Summary

After double vaccinated pregnant cows with use vaccine against rotavirus infection and colibacillosis, at feed during the first hours lives to of the colostrum received from mothers, allows to establish in serum of blood calfs of level of specific antibodies to rotavirus to value $7,2 \pm 0,34 \log_2$. Level of specific antibodies to *E.coli* F5 in serum of blood of the calfs has reached values $9,2 \pm 0,28 \log_2$, to *E.coli* F4 - to $13,6 \pm 1,34 \log_2$, and to *E.coli* Att25 to value $10,3 \pm 0,24 \log_2$.

ВВЕДЕНИЕ

Повсеместное применение антибиотиков и химиотерапевтических препаратов для лечения новорожденных телят при поражении желудочно-кишечного тракта, приводит к развитию дисбактериозов, нарушению обмена веществ, появлению устойчивых к действию антибиотиков штаммов, что усугубляет тяжесть течения болезни, увеличивает процент летальности заболевших телят и ухудшает качество получаемой продукции [1, 4, 5, 8].

Ротавирусная инфекция и колибактериоз являются одними из наиболее распространенных инфекционных болезней молодняка крупного рогатого скота. Наиболее часто данные заболевания протекают в ассоциации, что увеличивает тяжесть течения и процент летальности телят [1, 3, 4, 5, 6, 7, 9].

Вакцинация глубокостельных коров с целью создания колострального иммунитета у новорожденных телят при выпойке им иммунного молозива, является одним из самых эффективных и экологически безопасных способов профилактики инфекционных пневмоэнтеритов молодняка [2, 3, 8, 10, 11].

В настоящее время биологической промышленностью отечественной и зарубежных стран разработан и предложен значительный ряд биопрепаратов для профилактики и лечения ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота с разным антигенным спектром [2, 3, 10].

В большинстве случаев от вынужденно убитых и павших телят выделяют энтеротоксигенные штаммы эшерихий с адгезивными антигенами, входящими в диагностический набор: A20, K88, K99, F41 и реже P987. Заболевание могут вызывать *E.coli* с несколькими типами фимбриальных антигенов. У данного вида животных регистрируются *E.coli* со всеми типами фимбрий, входящими в диагностический набор: K88, K99, F41, 987P и A20. Данное обстоятельство указывает на значительное повышение приспособительных свойств бактерий по расширению их спектра патогенного воздействия. Если ранее считали, что *E.coli* с адгезивным антигеном K88 вызывает заболевание в большинстве случаев у поросят, то за период с 2002 по 2007 годы, нами установлено, что по частоте выделения адгезивных штам-

мов эшерихий, выделенных от павших и вынужденно убитых телят, его уже выделяют в 24,2% случаев. А это на 1,23% больше, чем выделенные *E.coli* с адгезивным антигеном K99. Некоторые из практикующих врачей хозяйств смешивают вакцину против колибактериоза поросят, с таковой против эшерихиоза телят, тем самым расширяется антигенный спектр биопрепарата, что повышает его эффективность [1, 3, 4, 6, 7, 12].

Наиболее перспективным направлением при конструировании вакцин против колибактериоза следует считать использование фимбриальных адгезинов, которые являются факторами патогенности возбудителя [2, 3, 4, 12].

На основании вышеизложенного, определение уровня распространения инфекционных энтеритов телят, вызываемых ротавирусами и энтеропатогенными штаммами *E.coli* за последние годы, создание биопрепарата, в который будут входить наиболее выделяемые штаммы возбудителей с целью специфической профилактики данных болезней крупного рогатого скота, является актуальной задачей, исходящей из запросов практикующих врачей ветеринарной медицины и биологической промышленности Республики Беларусь [4, 5, 6].

Нами разработана ассоциированная вакцина против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота с адгезивными антигенами A20, K99 и K88.

Целью наших исследований явилось определение напряженности колострального иммунитета у молодняка, полученного от коров, вакцинированных разработанным биопрепаратом в сравнении с производственными аналогами отечественного и зарубежного производства.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для изучения сравнительной эффективности разработанного биопрепарата в производственных условиях СПК «Ставоцкий» были сформированы 3 группы сухостойных коров.

Разработанную ассоциированную вакцину применяли коровам первой опытной

группы (n=120) в объеме 5,0 см³, двукратно за 1,5-2 месяца до отела, с интервалом в 21 день. Коровам второй группы (первая группа контроля, n=120) применяли вакцину «Комбовак», производства НПО «Нарвак» и вакцину поливалентную против колибактериоза (эшерихиоза) телят с адгезивными антигенами, производства УП «Витебская биофабрика». Биопрепараты вводили согласно наставлению по их применению. Коровам третьей группы (вторая группа контроля, n=43) биопрепараты не вводили.

В опыте использованы новорожденные телята, полученные от коров опытной и контрольных групп, которые были разделены соответственно на 3 группы. У новорожденных телят от животных опытной и контрольной групп были отобраны сыворотки крови для определения уровня специфических антител до приема молозива, на 1-й, 5-й и 10-й день после рождения. Продолжительность опыта составила 90 дней.

Для определения в сыворотках крови уровня противоротавирусных антител использовали реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), а для установления антиэшерихиозных антител проводили постановку реакции агглютинации (РА) на полистироловых планшетах. Постановку реакций проводили по стандартным методикам, с использованием диагностиков, применяемых в диагностических ветеринарных лабораториях Республики Беларусь.

Для конструирования ассоциированной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота вирусный компонент выращивают на культуре клеток СПЭВ. В качестве ростовой и поддерживающей среды использовали 5%-ный гемолизат, среду Игла или среду 199. Титрацию ротавируса проводили методом Рида и Менча на культуре клеток СПЭВ. Инфекционный титр ротавируса на матрасах составил - 8,0 Ig ТЦД₅₀/мл.

При приготовлении монокомпонентов эшерихий, использовали референтные штаммы *Escherichia coli* с адгезивными антигенами K99, K88 и A20, которые культивировали в матрасных колбах в течение 48 часов на агаровой питательной среде, до-

вода концентрацию бактериальных клеток стерильным физиологическим раствором до 5 млрд/мл.

В качестве инактиванта для эшерихий использовали теотропин в 0,1% концентрации, а инаktivацию ротавирусов проводили в его 0,2%-й концентрации. При составлении серии ассоциированной инаktivированной вакцины против ротавирусной инфекции и эшерихиоза крупного рогатого скота смешивание проводили в соотношении – две части вирусного и по одной части бактериальных монокомпонентов. Адьювант – эмульсиген, добавляли в количестве 10% от общего объема конечного продукта.

Полученный биопрепарат подвергали лабораторным исследованиям на стерильность, безвредность по общепринятым методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунизация коров разработанной вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота показала, что это безвредный, не обладающий тератогенным действием биологический

препарат. У коров опытной и контрольной групп за время проведения опытов абортотв и рождения мертворожденных телят не отмечено.

При иммунизации сухостойных коров разработанной вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота снижается общая заболеваемость полученных от них телят на 17,0 % в сравнении с телятами, полученными от коров контрольной группы, которым применяли базовые варианты биопрепарата, широко используемые в настоящее время на производстве.

В результате изучения сравнительной эффективности с группой контроля, которым не вводились биопрепараты, установлено, что при применении вакцины против ротавирусной инфекции и эшерихиоза крупного рогатого скота снижается общая заболеваемость телят на 35,3%.

Результаты проведенных серологических исследований сывороток крови, отобранных у новорожденных телят опытной и контрольных групп отображены на рисунке 1.

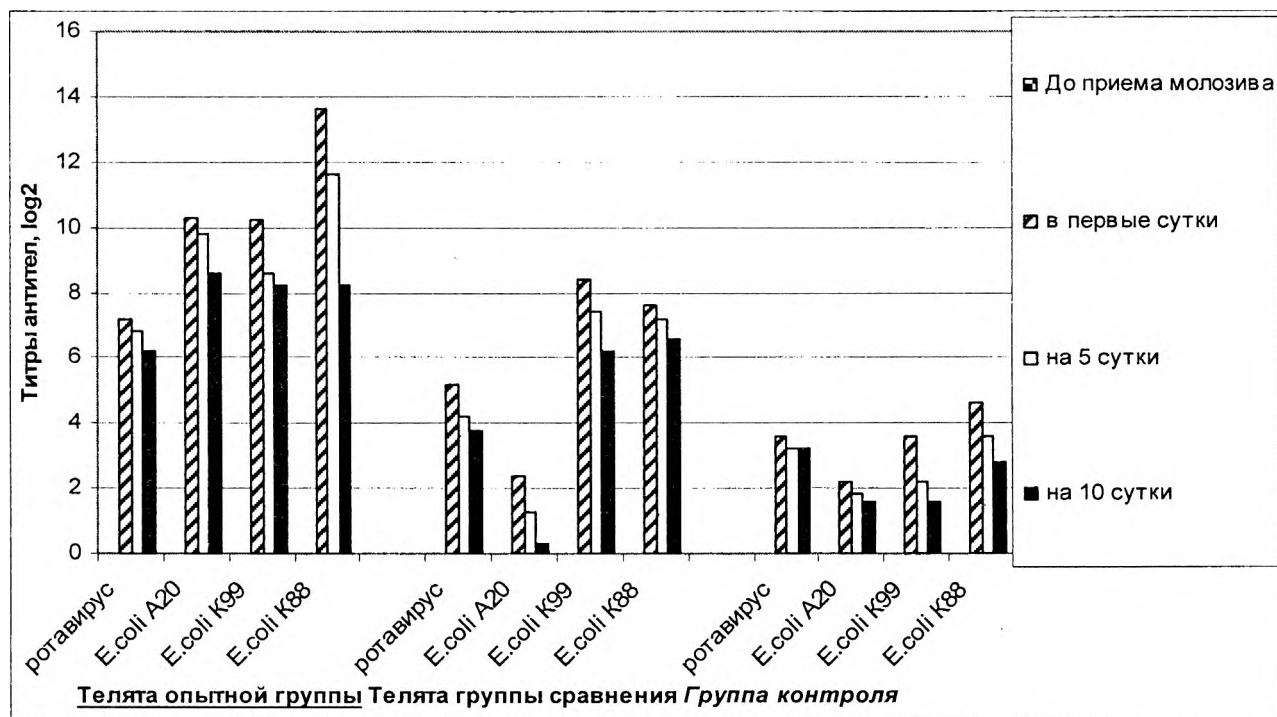


Рисунок 1 – Результаты серологических исследований сывороток крови новорожденных телят

При установлении уровня специфических антител в сыворотках крови новорожденных телят до приема молозива специфических антител не обнаружено. После приема молозива у телят опытной группы, полученных от коров, которым применяли разработанную вакцину против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота, отмечено увеличение противовирусных антител до значения $7,2 \pm 0,34 \log_2$, что на $2,0 \log_2$ выше полученного результата у телят группы сравнения, полученных от коров, которым применяли зарубежный биопрепарат.

При определении уровня антител к *E.coli* A20 установлен прирост антиэшерихиозных антител до значения $10,3 \pm 0,24$, к *E.coli* K99 до $9,2 \pm 0,28 \log_2$ и к *E.coli* K88 до $13,6 \pm 1,34 \log_2$. Достигнутые показатели выше таковых значений, полученных при применении отечественного биопрепарата к *E.coli* с адгезивным антигеном K99 на $1,8 \pm 0,47 \log_2$ и на $6,0 \pm 0,14 \log_2$ – к *E.coli* K88. Уровень специфических антител в сыворотке крови телят, полученных от коров, которым вводили ассоциированную вакцину против ротавирусной инфекции и колибактериоза, к адгезивному штамму *E.coli* A20 достиг значения $10,3 \pm 0,24 \log_2$. В сыворотках крови молодняка, полученного от коров, которым вводили производственные аналоги, уровень антител к адгезивному штамму *E.coli* A20 находился на том же уровне, что и у группы контроля, что объясняется отсутствием данного антигена в составе поливалентной вакцины против колибактериоза (эшерихиоза) телят, обогащенной адгезивными антигенами.

Производственные испытания опытной серии разработанной инактивированной вакцины показали, что сконструированный биопрепарат позволяет достичь высокой профилактической эффективности при вакцинации стельных коров с целью создания у новорожденных телят напряженного коллострального иммунитета при выпойке им молозива в первые часы после рождения, что позволяет повысить сохранность молодняка.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная инактивиро-

ванная вакцина вызывает у иммунизированных животных образование специфических антител на более высоком уровне по сравнению с препаратами сравнения и по своей эффективности превосходит испытанные зарубежный и отечественный производственные аналоги. Данные выводы подтверждаются результатами исследований уровня специфических антител в сыворотках крови новорожденных телят, полученных от коров опытной и контрольных групп.

ВЫВОДЫ

1. Применение ассоциированной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота при выпойке новорожденным телятам иммунного молозива позволяет установить в сыворотках крови молодняка уровень специфических антител к ротавирусу до значения $7,2 \pm 0,34 \log_2$, к *E.coli* A20 до значения $10,3 \pm 0,24$, к *E.coli* K99 – до $9,2 \pm 0,28 \log_2$, а к *E.coli* K88 – до $13,6 \pm 1,34 \log_2$.

2. В результате изучения сравнительной эффективности полученной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота путем определения в сыворотках крови телят опытной и контрольных групп уровня специфических антител после выпойки телятам иммунного молозива установлено: уровень специфических антител к ротавирусу в 4 раза был выше полученного показателя, чем у телят, которые были получены от коров, иммунизированных аналогами. По этому показателю получены результаты в 7,2 раза выше, чем у телят группы контроля в первые сутки. Уровень антител к *E.coli* K99 был выше в 3,6 раза, чем у телят, используемых для сравнения эффективности с прототипами биопрепарата и в 13,2 раза выше полученных результатов у телят группы контроля. В сыворотках крови телят, полученных от матерей, иммунизированных ассоциированной вакциной против ротавирусной инфекции и колибактериоза, уровень специфических антител к *E.coli* K88 в 12 раз был выше достигнутых результатов при вакцинации стельных коров производственными

аналогами и в 18 раз был выше установленных показателей уровня специфических антител, чем у телят контроля.

3. Профилактическая эффективность при применении вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота составляет 98,9%. Разработанная вакцина против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота является безвредным, высокоэффективным биологическим препаратом, который может быть рекомендован для специфической профилактики данных болезней новорожденного молодняка крупного рогатого скота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антигенный состав и патогенные свойства штаммов *E.coli*, изолированных от телят и поросят в Краснодарском крае / В.И. Терехов [и др.] // Российский ветеринарный журнал. – 2008. – № 4. – С. 6–7.

2. Головкин, А.И. Влияние различных средств специфической профилактики колибактериоза на эпизоотическую ситуацию по нем в Украине / А.И. Головкин // Аграрный вестник Причерноморья. Ветеринарные науки : сборник научных трудов. – Одесса : АСП Лтд, 1999. – № 2(7). – С. 25–27.

3. Зелютков, Ю.Г. Инфекционные энтериты новорожденных телят: монография / Ю.Г. Зелютков – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2006. – 188 с.

4. Ковальчук, Н.М. Проблемы эшерихиоза телят в современных условиях экологического неблагополучия / Н.М. Ковальчук // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 8. – С. 57–59.

5. Максимович, В.В. Мониторинг за эпизоотической ситуацией по инфекционным болезням животных в Республике Беларусь / В.В. Максимович // Ученые записки : [сборник научных трудов] : научно-практический журнал / УО ВГАВМ. – Ви-

тебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 78–81.

6. Машеро, В.А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В.А. Машеро, П.А. Красочко // Ученые записки : [сборник научных трудов] : научно-практический журнал / УО ВГАВМ. – Витебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 83–86.

7. Садовський, В.Я. Роль представників родини Enterobacteriaceae в етіології шлунково-кишкових хвороб новонароджених телят: автореферати дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук 16.00.03. / В.Я. Садовський; Національний аграрний університет. – Київ, 1997. – С. 23.

8. Сидоров, М.А. Иммуный статус и инфекционные болезни новорожденных телят и поросят / М.А. Сидоров, Ю.Н. Федоров, О.М. Савич // Ветеринария №11, 2006. – С. 3-6.

9. 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.

10. 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.

11. Prevalence of antibodies to four bovine rotavirus strains in different age groups of cattle / H. Brussow [et al.] // Veterinary Microbiology. – 1992. – Vol. 25, № 2/3. – P. 143–151.

12. Prevalence of four enterotoxin (STaP, STaH, STb, and LT) and four adhesin subunit (K99, K88, 987P, and F41) genes among *Escherichia coli* isolates from cattle / J.G. Mainil [et al.] // Am. J. Vet. Res. – 1990. – Vol. 51, № 2. – P. 187–190.