

УДК 619:615.37:636.22/.28.0532:619:616.2

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук¹**Зуйкевич Т.А.**, кандидат сельскохозяйственных наук¹**Красочко П.А.**, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор²**Ломако Ю.В.**, кандидат ветеринарных наук, доцент¹**Новикова О.Н.**, кандидат ветеринарных наук¹¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск²УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКЦИНЫ «БЕЛВИРОПАСТ»

Резюме

Разработка средства специфической профилактики вирусно-бактериальных респираторных заболеваний телят, позволяющего эффективно бороться с пневмонией различного происхождения, является весьма актуальной задачей на сегодняшний день. Одним из этапов при разработке являются производственные испытания эффективности нового препарата, в частности, изучение показателей неспецифической резистентности. При проведении производственных испытаний вакцины «Виропаст» было установлено, что она обладает выраженной фагоцитозстимулирующей активностью, повышает уровень неспецифической резистентности организма животных.

Summary

Nowadays, the development of the preparation for specific prevention of viral and bacterial respiratory diseases of calves, which makes it possible to effectively prevent of different kinds of pneumonia, is a very actual task. The field trials of the new preparation effectiveness are one of the stages of development, in particular, the study of nonspecific resistance indices. During the field trials of the Viropast vaccine it was established that the preparation has a phagocytosis-stimulating activity, increases the level of nonspecific resistance of the animal organism.

Поступила в редакцию 06.12.2017 г.

ВВЕДЕНИЕ

Рост числа респираторных заболеваний крупного рогатого скота является острой проблемой во всем мире и одной из основных причин экономического ущерба в животноводстве. Как правило, первые признаки респираторной патологии появляются через 5–10 дней после технологической перегруппировки и перевода телят из родильного отделения в профилакторий. По широте распространения, смертности, вынужденному убою, снижению привесов заболевания органов дыхания у телят послеотъемного периода превалируют над всеми остальными патологиями [5, 6].

За последние годы все чаще регистрируются вирусно-бактериальные микстпатологии, вызванные вирусами парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, вирусной

диареи – болезни слизистых, аденовирусами, респираторно-синцитиальным вирусом в различных сочетаниях, с участием пастерелл, микоплазм, хламидий, стрептококков, сальмонелл и других микроорганизмов [1, 4]. Нарушения санитарно-гигиенического режима при получении и выращивании телят, недостаточное обеспечение сбалансированными кормами приводят к снижению резистентности организма, тяжелому течению инфекций, рецидивам и различным осложнениям [7, 8].

Сложность борьбы с заболеваниями крупного рогатого скота, обусловленными условно-патогенными бактериями, прежде всего объясняется тем, что пневмоэнтериты телят вызываются преимущественно ассоциацией вирусов и условно-патогенных бактерий, которые имеют лабильные

факторы патогенности, обладают плюрализмом, что затрудняет диагностику и профилактику этих болезней [2, 3].

В этой связи разработка и внедрение в практику ветеринарии новых отечественных высокоэффективных средств специфической профилактики вирусно-бактериальных инфекций телят является одной из наиболее актуальных задач.

Целью настоящих исследований является разработка и оценка эффективности средства специфической профилактики вирусно-бактериальных респираторных заболеваний телят.

На данном этапе работы решалась задача по проведению производственной проверки эффективности вакцины инактивированной эмульгированной при вирусных и бактериальных пневмониях молодняка крупного рогатого скота, в частности, изучение показателей неспецифической резистентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-исследовательская работа проводилась на базе отделов вирусных инфекций и бактериальных инфекций крупного рогатого скота РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», вивария института, ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», животноводческих хозяйств Республики Беларусь.

Для специфической профилактики инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и пастереллеза крупного рогатого скота нами была разработана ассоциированная вакцина «Белвиропаст». С целью конструирования указанного биопрепарата использованы штаммы вирусов инфекционного ринотрахеита (КМИЭВ-V123), вируса диареи (КМИЭВ-V120), парагриппа-3 (КМИЭВ-V124), бактерий *Mannheimia haemolytica* (КМИЭВ - B158) и *Pasteurella multocida* тип А (КМИЭВ-B166).

Для культивирования вакцинных штаммов вирусов использована перевиваемая культура клеток MDBK; штаммы бактерий выращивали на бульоне Хоттингера.

Титр каждого вируса для конструирования вакцины составлял не менее 6,5 lg ТЦД₅₀/мл, вирус диареи – с титром 7,5 lg ТЦД₅₀/мл, вирус парагриппа-3 – с титром 6,5 lg ТЦД₅₀/мл); концентрация бактериальных клеток для каждого штамма составляла не менее 5 млрд. м.т. в см³. В качестве адъюванта использован Montanide ISA-206 (Seppic, Франция).

Для определения стерильности изготовленного биопрепарата пробу вакцины стерильной стеклянной пипеткой добавляли в объеме 0,1 см³ в пробирки с МПА и средой Сабуро, а также по 0,2 см³ – в пробирки с МПБ и среду Китта-Тароцци под вазелиновым маслом (использовали по две пробирки с каждой питательной средой). Через двое суток из каждой пробирки с МПБ проводили пересев на две пробирки с МПА и одну пробирку с МПБ в тех же объемах, что и при посеве. Одновременно проводили контроль стерильности питательных сред. По одной пробирке с каждой средой выдерживали в термостате в тех же условиях, что и среды с посевами. Посевы на среде Сабуро выдерживали в термостате при температуре плюс (21±1,0)°С, а на остальных средах – при температуре плюс (37±1,0)°С в течение 10 суток – первичные посевы, в течение 8 суток – вторичные.

По истечении 10 суток (после первичного посева и повторного пересева) во всех средах с посевами вакцины должен отсутствовать рост бактерий и грибов.

Безвредность и реактогенность изготовленного биопрепарата определяли на 30 белых мышах живой массой 18–20 г, которых разделили на 2 опытные и 1 контрольную группы по 10 голов в каждой. Образцы препарата вводили мышам опытных групп в дозе по 0,5 см³. Десяти мышам группы контроля вводили физраствор в тех же дозах.

Производственные испытания средства специфической профилактики при вирусно-бактериальных пневмониях молодняка крупного рогатого скота проводили на телятах 8–12, 30–35-дневного возраста и коровах в период сухостоя на базе 2-х животноводческих хозяйств: ОАО «Що́мыс-

лица» Минского района и СПК «Жуховичи» Кореличского района Гродненской области.

Производственные испытания вакцины инактивированной эмульгированной

для профилактики вирусно-бактериальных пневмоний крупного рогатого скота проведены по схеме, представленной в таблице 1.

Таблица 1 – Схема опыта по оценке эффективности вакцины инактивированной эмульгированной для профилактики вирусно-бактериальных пневмоний крупного рогатого скота

Группа животных	Животные	Количество голов	Доза и кратность введения вакцины
опытная группа 1	телята 8–12-дневного возраста	5	1,0 см ³ однократно
опытная группа 2	телята 8–12-дневного возраста	5	1,0 см ³ двукратно с интервалом 21–28 дней
опытная группа 3	телята 30–35-дневного возраста	21	2,0 см ³ однократно
опытная группа 4	телята 30–35-дневного возраста	21	2,0 см ³ двукратно с интервалом 21–28 дней
опытная группа 5	коровы в период сухостоя	9	3,0 см ³ однократно
опытная группа 6	коровы в период сухостоя	11	3,0 см ³ двукратно с интервалом 21–28 дней
контрольная группа 1	телята 8–12-дневного возраста	5	физ. раствор
контрольная группа 2	телята 30–35-дневного возраста	6	физ. раствор
контрольная группа 3	коровы в период сухостоя	5	физ. раствор

До введения у животных взята кровь и изучены основные показатели специфического и неспецифического иммунитета:

- бактерицидная активность сыворотки крови по Дорофейчуку (1966);
- лизоцимная активность сыворотки крови по Смирновой и Кузьминой (1968);
- фагоцитарная активность нейтрофилов;
- концентрация g-интерферона – в ИФА.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Контроль изготовленного биопрепарата на стерильность показал, что за период наблюдения в течение 10 суток на питательных средах (МПА, МПБ, Сауро, Китта-Тароцци) с посевами проб вакцины роста бактерий и грибов не выявлено. Пробирки с питательными средами и посевами исследуемых образцов оставались без изменений (цвета, наличия осадка и т.д.), что свидетельствует о стерильности разрабо-

танного биопрепарата.

В процессе определения безвредности и реактогенности на лабораторных животных в течение 10 дней изменений их клинического состояния не наблюдалось. Белые мыши в опыте и контроле оставались живыми, что подтверждает безвредность и ареактогенность сконструированной вакцины.

Результаты изучения показателей неспецифической резистентности организма телят, иммунизированных сконструированными образцами инактивированной вакцины, представлены в таблице 2.

Проведенные исследования свидетельствуют о стимулирующем действии сконструированного биопрепарата на показатели неспецифической резистентности коров и телят. Как видно из данных, приведенных в таблице 2, стимуляцию фагоцитарной активности гранулоцитов отмечали как после 1-й, так и после 2-й вакцинации препаратом «Виропаст».

Таблица 2 – Результаты изучения показателей неспецифической резистентности организма телят

Сроки взятия крови	Группа животных	Лизоцимная активность сыворотки крови, %	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число	Показатель завершенности фагоцитоза, %
1	2	3	4	5	6	7
до введения	ОГ 1	-	-	34,3±4,8	2,2±0,8	17,6±0,7
	ОГ 2					
	КГ 1					
	ОГ 3	18,66±8,18	97,7±0,85	34,3±4,8	2,4±0,8	21,7±0,5
	ОГ 4	65,48±9,9	98,4±0,77			
	КГ 2	71,15±19,15	99,78±0,89	24,3±4,8	2,1±0,8	27,6±3,7
	ОГ 5	12,95±4,88	76,38±13,39			
	ОГ 6	7,07±4,61	108,9±3,40			
через 28 дней после первичной иммунизации	ОГ 1	32,46±10,07	84,42±5,89	44,6±4,0**	2,8±0,3**	28,3±1,2**
	ОГ 2	24,16±9,24	76,46±4,69			
	КГ 1	47,65±11,80	85,24±2,57	30,8±0,8	1,6±0,2	13,0±0,8
	ОГ 3	18,76±5,29	100,88±1,05*			
	ОГ 4	23,23±11,07	95,08±1,97	41,6±3,2**	2,5±0,3	20,5±1,2**
	КГ 2	27,81±4,77	94,65±2,05	33,8±0,8	2,3±0,2	9,4±0,8
	ОГ 5	18,7±9,31	95,6±5,9	-	-	-
	ОГ 6	47,15±8,77	91,57±2,46	-	-	-
КГ 3	36,92±5,78	87,77±5,56	-	-	-	
через 56 дней после первичной иммунизации	ОГ 1	-	-	35,5±0,9**	1,8±0,09	23,5±1,9**
	ОГ 2			38,6±1,9**	1,84±0,03	30,6±1,5**
	КГ 1			25,3±1,5	1,0±0,2	12,3±1,1
	ОГ 3	48,84±7,23	74,78±5,76	-	-	-
	ОГ 4	61,66±1,19	60,68±1,56	48,6±1,9**	2,6±0,03**	30,6±1,5**
	КГ 2	54,64±3,13	79,46±3,64	38,3±1,5	2,0±0,2	14,3±1,1
	ОГ 5	4,42±1,13	89,7±2,12	36,2±1,9**	2,9±0,09**	25,6±1,8**
	ОГ 6	12,34±5,14	69,56±17,5	38,1±2,4**	2,8±0,07**	29,7±2,2**
КГ 3	16,6±3,67	84,36±2,03	26,7±1,8	1,0±0,2	18,6±1,9	

Достоверное различие ($P \leq 0,01$) в опытных группах по сравнению с контролем отмечали при изучении фагоцитарного показателя, фагоцитарного числа и показателя завершенности фагоцитоза. Таким образом, вакцина «Виропаст» обладает выраженной фагоцитозстимулирующей активностью и повышает уровень неспецифической

резистентности организма животных. Достоверное ($P \leq 0,05$) повышение бактерицидной активности отмечено только на 28 сутки после однократной вакцинации у телят в возрасте 30–35 дней, при этом значимого увеличения уровня лизоцимной активности сыворотки крови в опытных группах не отмечено.

Таблица 3 – Изучение гамма-интерферон-индуцирующих свойств вакцины «Виропаст» у коров и телят

Сроки взятия крови	Группа животных	Значение ОП, 450 нм
1	2	3
через 28 дней после первичной иммунизации	ОГ 1	0,184±0,05
	ОГ 2	
	КГ 1	0,171±0,03
	ОГ 3	0,046±0,005
	ОГ 4	
	КГ 2	0,04±0,003
	ОГ 5	0,079±0,005
	ОГ 6	
КГ 3	0,124±0,03	
через 56 дней после первичной иммунизации	ОГ 1	0,052±0,009
	ОГ 2	0,185±0,004
	КГ 1	0,056±0,005
	ОГ 3	0,049±0,009
	ОГ 4	0,078±0,004
	КГ 2	0,047±0,005
	ОГ 5	-
	ОГ 6	0,087±0,002
КГ 3	0,094±0,04	

В результате изучения гамма-интерферон-индуцирующих свойств вакцины «Виропаст» у коров и телят установили, что введение разработанного биопрепарата сопровождалось незначительным повышением гамма-интерферона в некоторых опытных группах телят, при этом повышение интерферона в крови было более выражено у телят 8–12-дневного возраста. У коров и

телят 30–35-дневного возраста этот показатель практически не изменялся.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вакцина «Виропаст» обладает выраженной фагоцитозстимулирующей активностью, повышает уровень неспецифической резистентности организма животных.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Вирусные и ассоциативные вирусно-бактериальные респираторные болезни крупного рогатого скота / А.Г. Готов [и др.] // *Ветеринарный консультант*. – 2005. – № 9. – С. 5–14.
- 2 Диагностика пневмоэнтеритов молодняка крупного рогатого скота в Республике Беларусь / А.Н. Притыченко [и др.] // *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почта» государственная академия ветеринарной медицины»*. – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 54–59.
- 3 Ковальчук, Н.М. Проблемы эшерихиоза телят в современных условиях экологического неблагополучия / Н. М. Ковальчук // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2008. – № 4. – С.21–22.
- 4 Максимов, И.А. Смешанные респираторные инфекции КРС / И.А. Максимов // *Ветеринарный консультант*. – 2003. – № 9–10 – С. 10–14.
- 5 Мищенко, В.А. Проблема респираторной патологии новорожденных телят / В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, О.Ю. Черных // *Ветеринария Кубани*. – 2013. – № 6. – С. 19–20.
- 6 Особенности массовых ассоциированных респираторных заболеваний взрослого КРС / В.А. Мищенко [и др.] // *Ветеринария Кубани*. – 2011.–№ 3.–С.13–15.
- 7 Особенности эпизоотологического процесса при острых вирусных респираторных болезнях КРС / Н.А. Кавенькин [и др.] // *Ветеринарный консультант*. – 2005. – № 5. – С. 8.
- 8 Профилактическая эффективность фитациеи при респираторных болезнях телят / Е.П. Сисягина [и др.] // *Ветеринарная патология*. – 2012. – № 3. – С. 29–31.