combinant baculovi- rus-encoded chicken anaemia virus (CAV) proteins VP1 and VP2 is required for formation of the CAV-specific neutralizing epitope //J. Gen. Virol. – 1998. – 79. – P.3073 - 3077.

8.Pallister R.J., Fahey K.J., Sheppard M. Cloning and sequencing of the chicken anemia virus (CAV) ORF- 3 gene, and the development of an ELISA for the detection of serum antibody to CAV//Veterinary Microbiology. – 1994. – 39. – P.167 - 178.

9.Pringle C.R. Virus Taxonomy at the XIth International Congress of Virology. Sydney, Australia //Archives of Virology. – 1999. – 144. – P.2065 - 2070.

10.Renshaw R.W., Soine C., Weinkle T, O'Connell PH., Ohashi K., Watson S., Lucio B., Harrington S., Schat K.A. A hypervariable region in VP1 of chicken infectious anemia virus mediates rate of spread and cell tropism in tissue culture //J. Virol. – 1996. – 70. – P.8872 - 8878.

DOI 10.47804/978-5-89904-028-3_2020_157

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ

[1]П.А.Красочко, [1]Я.П.Яромчик, [1]П.П.Красочко, [2]В.И.Еремец, [2]Е.Э.Школьников, [2]И.В. Павленко

[1]УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, Республика Беларусь
e-mail: krasochko@mail.ru;
[2]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», Щелково, Московской обл.
e-mail:vnitibp@mail.ru

Резюме. Оптимальная доза для вирусов инфекционного ринорахеита, вирусной диареи, рота-, и коронавирусов с инфекционным титром от 5,5 до 7,0 lg ТЦД$_{50/см3}$, составил при проведении иммунизации коров объеме 5,0 см^3. Для каждого бактериального штамма E.coli К99, К88, А20 и S. dublin и S. enteritidis, оптимальная доза составляет 2,5 млрд. бактериальных тел в 1,0 см^3.

Summary. The optimum dose for virus antigens with infectious titres from 5,5–6,5 lg TCI$_{50/sm^3}$ for cows forms 5,0 sm^3. The optimum dose for each bacterial strains E.coli F4, F5, Att25 and S. dublin, S. enteritidis forms 2,5 milliard bacterial cells in 1,0 sm^3.

Ключевые слова: вакцина, инфекционный ринорахеит, вирусная диарея, ротавирусы, коронавирусы, эшерихии, сальмонеллы.

Key words: vaccine, infectious rhinoracheitis, viral diarrhea, rotaviruses, coronaviruses, escherichia, salmonella.

Введение. В странах с развитым молочным и мясным скотоводством, в том числе и в Республике Беларусь, ведущее место в структуре болезней телят первых дней жизни занимают факторные болезни, характеризующиеся поражением органов желудочно-кишечного тракта инфекционной этиологии [2, 6, 7, 12, 10,15].

Вакцинация глубокостельных коров и нетелей против инфекционных болезней молодняка крупного рогатого скота позволяет значительно повысить сохранность телят за счет создания коллострального иммунитета [1,2,11].

Конструирование биопрепаратов на основе факторов патогенности позволяет повысить их профилактическую эффективность, что обусловлено наибольшей вероятностью совпадения антигенного спектра вакцинных и эпизоотических штаммов. Более того, блокируя внедрение и колонизацию возбудителя болезни, можно остановить на самых ранних этапах развитие инфекционного процесса [6,10,11,15].

При конструировании ассоциированных вакцин одной из задач при их разработке является определение оптимальных доз и соотношений компонентов, входящих в состав биопрепаратов. Определение иммунологической эффективности вакцин проводится путем сопоставления показателей прироста поствакцинальных антител в сыворотках крови животных в разные сроки после их введения [3, 4, 5, 13,14].

Используемые высокие концентрации антигенных компонентов в вакцине не имеют прямой пропорциональной связи с ожидаемыми при этом показателями иммуногенности, что связано с возможной чрезмерной антигенной нагрузкой на иммунную систему животных. При одновременном введении нескольких биопрепаратов, предназначенных для создания активного иммунитета, могут наблюдаться местные реакции на вводимый объем антигенов, что сопровождается повышением общей температуры тела, снижением продуктивности. Отсутствие корреляции между уровнем иммунной защиты и количественным содержанием вводимого при вакцинации антигена требует проведения ряда научных исследований, направленных на получение ассоциированных вакцин, обладающих

показателями высокой иммуногенности и ареактогенными свойствами [3, 4, 5, 7, 9, 13,15].

Количество используемого антигена зависит от выбора депонирующего вещества, установлена взаимосвязь уровня антител и морфологических изменений тканей животных на введение вакцин с разными адъювантами [3, 8].

В связи с этим нами проведена работа по определению оптимальной иммунизирующей дозы и соотношений монокомпонентов ассоциированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза телят с масляным адъювантом.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях кафедры эпизоотологии и отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Экспериментальная работа проводилась на базе СРДУП «Улишицы Агро» Городокского района Витебской области. Для этого сформировано 3 группы коров черно-пестрой породы, живой массой 400-450 кг по 10 голов в группе.

Коровам опытных групп №1 и №2 вариант ассоциированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза телят, монокомпоненты которой эмульгированы в масляном адъюванте ИЗА-25 (Seppic, Франция) вводили внутримышечно, в область крупа, двукратно, с интервалом в 21 день, в объеме 3,0 и 5,0 см^3, соответственно.

После вакцинации за животными было установлено клиническое наблюдение в течение 60 дней. О наличии возможной реактогенности опытных вариантов вакцин судили по наличию местной реакции и общего клинического состояния организма животных, в течение первых суток после вакцинации проводили термометрию.

Для подтверждения достоверности опыта была сформирована группа контроля (n=10).

Опытные варианты разрабатываемой вакцины против вирусно-бактериальных энтеритов молодняка крупного рогатого скота изготовлены ОАО «БелВитунифарм» Витебского района. Для накопления вирусных монокомпонентов были использованы аттенуированные штаммы вирусов инфекционного ринатрахеита, вирусной диа-

реи, ротавирусов, с полученными инфекционными титрами - 6,5-7,0 lg ТЦД$_{50/см3}$, для вакцинного штамма короавируса - 5,5 lg ТЦД$_{50/см3}$, а для получения бактериальных монокомпонентов биопрепарата отобраны штаммы E.coli с адгезивными антигенами А20, К88, К99, F41 и 987Р, а также штаммы S. dublin и S. enteritidis, с концентрацией бактериальных клеток – от 1,5 до 2,5 млрд. бактериальных тел в 1 см^3.

Для серологических исследований у коров были взяты сыворотки крови до вакцинации, через 21, 45 и 60 дней после иммунизации. Для установления наиболее оптимальных доз и соотношений монокомпонетов конструируемой вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза телят определяли титры противовирусных антител в РНГА с применением эритроцитарных диагностикумов, титры антибактериальных антител – в РА на полистироловых планшетах. Лабораторные исследования выполнены в научной лаборатории кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней и в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины».

Статистическую обработку полученных результатов серологических исследований проводили с использованием компьютерных программ Excel и Stat Biom 2720.

Результаты исследований. Применение ассоциированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза молодняка крупного рогатого скота в разных объемах не вызывало общеклинических и местных изменений после вакцинации. Введение исследуемой вакцины приводило к выраженному достоверному приросту специфических антител у иммунизированных животных.

На рисунках 1-2 представлены результаты изучения динамики специфических антител к вирусу инфекционного ринорахеита и вирусу диареи крупного рогатого скота в сыворотках крови коров опытных групп №1 и №2, для вакцинации которых применили ассоциированную вакцину против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза телят.

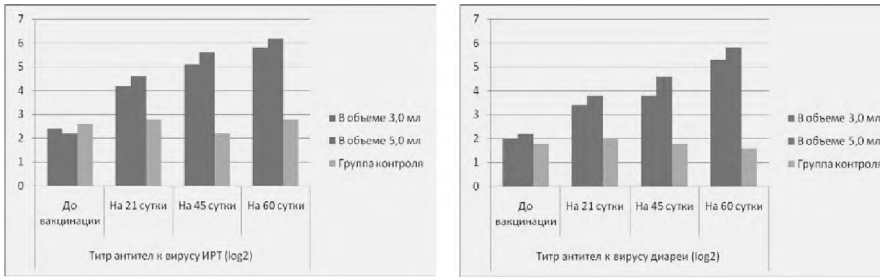


Рис. 1-2. Результаты определения иммунного ответа к вирусу ИРТ и вирусу диареи крупного рогатого скота у коров после введения вакцины в разных объемах

Иммунизация коров конструируемой вакциной против вирусно-бактериальных энтеритов крупного рогатого скота в объеме 5,0 см^3 приводит к наиболее высокому биосинтезу специфических антител к вирусу инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота с 2,2±0,2 log^2 до вакцинации до значения 6,2±0,4 log^2 после двукратной вакцинации. В сыворотках крови коров опытной группы №2 уровень специфических антител к вирусу диареи крупного рогатого скота не имел существенный отличий от такового показателя, полученного при серологических исследованиях у коров опытной группы №1, и достиг значения 5,8 и 5,3 log2, соответственно.

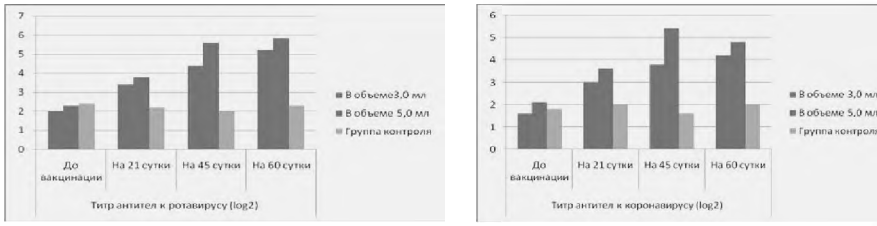


Рис.3-4. Титры антител к рота-, и коронавирусам крупного рогатого скота после применения ассоциированной вакцины в разных объемах

На рисунках 3-4 представлены результаты определения прироста противовирусных антител к рота-, и коронавирусам крупного рогатого скота у животных групп опыта №1 и №2, для вакцинации которых использовали ассоциированную вакцину против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза молодняка крупного рогатого скота.

Из полученных результатов установлено, что при введении разработанной вакцины в объеме 5,0 см^3 прирост антител к ротавирусу через 24 дня после повторной иммунизации достиг до значения 5,6±0,24 $\log_2$, что выше на 50% достигнутого результата при применении испытуемого биопрепарата в объеме 3,0 см^3.

На 45-е сутки опыта, после повторной иммунизации, в сыворотках крови животных второй опытной группы, с высоким уровнем достоверности установлено увеличение уровня специфических антител к коронавирусу на 1,6 $\log_2$ выше, чем при использовании ассоциированной вакцины коровам первой опытной группы в объеме 3,0 см^3.

На рисунках 4-8 представлены результаты определения прироста противоэшерихиозных антител к E.coli с адгезивными антигенами А20, К88, К99, F41 и 987Р у коров групп опыта №1 и №2, иммунизированных конструируемой вакциной против инфекционных энтеритов телят первых дней жизни.

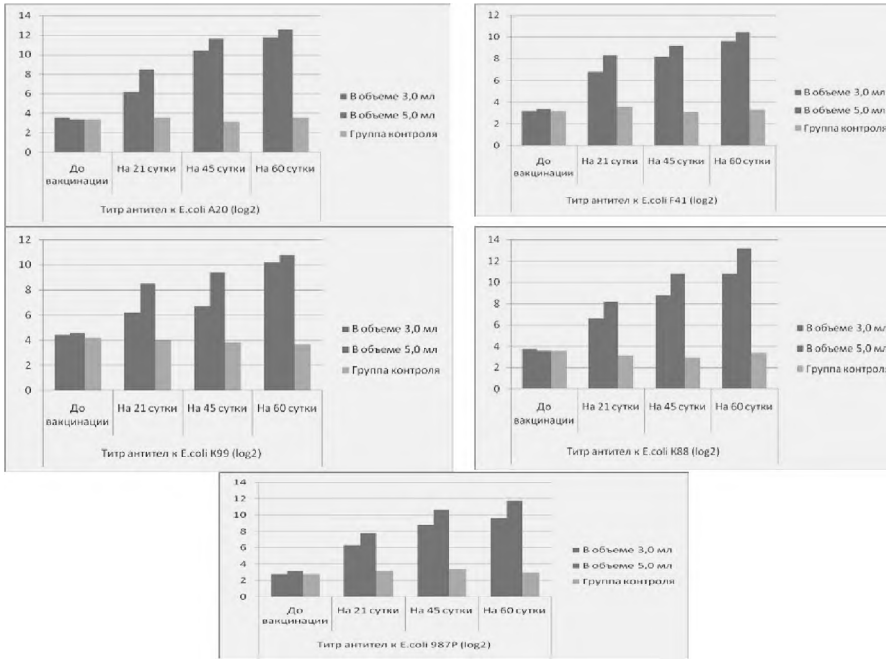
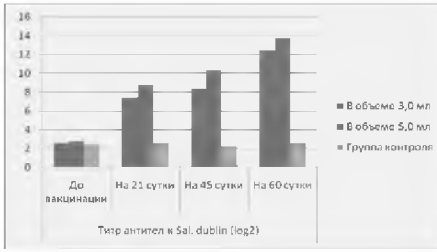


Рис. 4-8. Титры антибактериальных антител к E.coli А20, К88, К99, F41 и E.coli 987Р при применении ассоциированной вакцины в разных объемах.

Результаты серологических исследований сывороток крови коров, вакцинированных ассоциированной вакциной против инфекционных энтеритов телят в объеме 5,0 см^3, указывают на наиболее высокий достоверный прирост специфических антител в сыворотках крови коров 2-й опытной группы, значения которых на 60 сутки после двукратной вакцинации достигли: к E.coli A20 – 11,8±0,21 log_2, к E.coli K88 – 13,2±0,22 log_2, к E.coli F41 - 10,4±0,67 log_2, к E.coli 987P - 11,8±0,14 log_2. Серологический ответ на введение биопрепарата в разных объемах практически не отличался у животных обеих опытных групп к бактериальному монокомпоненту E.coli K99 и составил в среднем их значении 10,6 log_2.

На рисунках 9-10 представлены результаты серологических исследований коров, иммунизированных ассоциированной вакциной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза крупного рогатого скота, отражающие уровень биосинтеза специфических антител к серовариантам штаммов сальмонелл S.dublin и S.enteritidis.



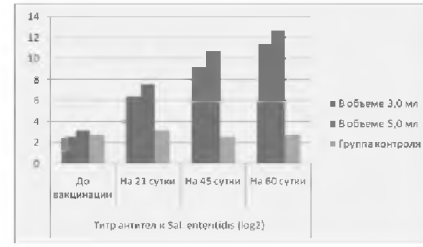


Рис. 9-10. Титры специфических антител к S. dublin и S. enteritidis после введения ассоциированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции, эшерихиоза и сальмонеллеза молодняка крупного рогатого скота

Из представленных рисунков видно, что уровень антибактериальных антител к вакцинным штаммам сальмонелл в сыворотках крови коров второй опытной группы достоверно превышал получаемые результаты синтеза специфических антител у коров первой группы опыта практически на всех этапах исследований, достигая значений: к S. dublin - 13,7±0,23 log_2 и к S. enteritidis - 11,4±0,16 log_2.

В сыворотке крови коров контрольной группы на протяжении всего срока исследований наблюдали незначительное колебание уровня титров специфических антител без существенных статисти-

чески достоверных отличий от полученных результатов серологических исследований у коров данной группы в начале опыта.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что по результатам гуморального иммунного ответа оптимальной дозой для вирусов инфекционного ринорахеита, вирусной диареи, рота-, и коронавирусов с инфекционным титром от 5,5 до 7,0 lg $ТЦД_{50/см3}$, составил вводимый при вакцинации объем – 5,0 $см^3$. Для каждого бактериального штамма E.coli K99, K88 и A20 и сальмонелл - S. dublin и S. enteritidis, оптимальная доза составляет, с концентрацией бактериальных клеток 2,5 млрд/мл 1,0 $см^3$, что обеспечивает максимальную выработку специфических антител у вакцинированных животных.

Подтверждается необходимость двукратного введения разработанной ассоциированной вакцины против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота.

Литература

1. Бьядовская О.П., Юдина З.А. Определение титра антител к вирусу инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота по значению показателя S/P при тестировании сывороток крови в непрямом варианте иммуноферментного анализа // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных, ФГБУ «ВНИИЗЖ». – Т. 13. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2015. – С. 124-131.

2. Красочко П.А. и др. Ветеринарные и технологические мероприятия при содержании крупного рогатого скота: монография. /Под общ. ред. П.А.Красочко. - Смоленск: «Универсум», 2016. - 508 с.

3. Красочко П.А., Красочко И.А., Высокоморная О.В. Взаимосвязь уровня антител и морфологических изменений тканей животных на введение вакцин с масляными адъювантами //Межд. научно-практ. ж.: Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. - Вып. 3/2013. – Минск, 2013. – С. 52–59.

4. Красочко П.А., Ламан А.М. Разработка бивалентной инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота //Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. - Т. 40. – 2018. – С. 74-82.

5. Красочко П.А. и др. Эффективность трехвалентной вакцины против вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота в производственных условиях: сб. научн. тр. «Сельское хозяйство – проблемы и перспективы». - Т. 46. – 2019. – С. 85-93.

6. Красочко П.А., Красочко И.А. Диагностика, профилактика и терапия респираторных желудочно-кишечных заболеваний молодняка: мат. межд. научн.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Х.С. Горегляда и М.К. Юсковца «Проблемы патологии, санитарии и бесплодия в животноводстве». - РК ООО "ПолиБиг".- Минск. - 1998. - С. 15-18.

7. Машеро В.А., Красочко П.А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь //Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. - 2007. - Т. 43. - № 2. - С. 83-86.

8. Красочко П.А. и др. Оценка качества адъювантов и сорбентов на основе полисахаридов растительного происхождения //Международный научно-практический журнал: Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. - Выпуск 1/2014. – Минск, 2014. – С. 62–67.

9. Бьядовская О.П. и др. Применение ИФА для выявления антител к коронавирусу КРС: тр. Федерального центра охраны здоровья животных, ФГБУ «ВНИИЗЖ». – Т. 15. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2015. – С. 28-33.

10. Прудников В.С., Герман С.П., Василенко А.И. Патоморфология, диагностика и специфическая профилактика вирусных болезней телят с диарейным синдромом при моно- и ассоциативном течении /Научн.-практ. журн. «Ветеринарный журнал Беларуси». – 2017. – №. 2(7). – С. 52–55.

11. Красочко П.А. и др. Средства специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота и свиней //Практическое пособие. - Минск, 2018. - 368 с.

12. Фурдуй Ф.И. и др. Физиологические основы проявления стрессов и пути их коррекции в промышленном животноводстве: монография в 2 ч. - Ч. 2 /под ред. П.А.Красочко. - Горки: БГСХА, 2013. - 492 с.

13. Crouch C.F., Oliver S., Francis M.J. Serological, colostral and milk responses of cows vaccinated with a single dose of a combined vaccine against rotavirus, coronavirus and Escherichia coli F5 (K99) //Veter. Rec. – 2001; Vol. 149, N 4. – P. 105-108.

14. Aich P., Wilson H.L., Kaushik R.S. et al. Comparative analysis of innate immune responses following infection of newborn calves with bovine rotavirus and bovine coronavirus //J.Gen. Virol. – 2007. – Vol. 88. – P. 2749-2761.

15. Dobilas J., Barzelis L. Epizootic investigations of colibacteriosis on farms and development of vaccine // Vet. Med. and Zootech. (Lithuania) / Sc. Works. – 1997. – Vol. 4, № 26. – P. 22–24.

DOI 10.47804/978-5-89904-028-3_2020_165

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВИРУСА БОЛЕЗНИ АУЕСКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ КУЛЬТУР КЛЕТОК

О.Ю. Лоивская

ФКП «Щелковский биокомбинат», Щелково, Московской обл.
e-mail: LoivskayaOY@biocombinat.ru

Резюме. В статье обобщены результаты работ по определению инфекционной активности вируса болезни Ауески методом титрования в планшетах

Summary. The article summarizes the results of work on determining the cytopathic effect of the Aujeszky disease virus on various cell lines in determining the infectious activity of the virus by titration in plates.

Ключевые слова: вирус болезни Ауески, титрование микрометодом, культура клеток, среда, цитопатическое действие.