

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИНАКТИВИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА НЕКОТОРЫЕ ВИРУСЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Симакова Н.М., **Красочко В.П.

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

**УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь

В статье дана характеристика некоторых инактивантов и представлены сравнительные результаты влияния их на парвовирус, вирус инфекционного ринотрахеита и диареи крупного рогатого скота.

The characteristic of several of inactivants and the results of their its influence of same viruses of cattle are presents in the article.

Введение. В условиях ведения современного животноводства особое место занимают массовые аборт, эндометриты и вагиниты у коров с последующим переболеванием полученного от таких животных молодняка пневмоэнтеритами. Сложность борьбы с комплексом такого рода заключается в трудности диагностирования в следствие полиэтиологичности проблемы: неправильное кормление, выпойка недоброкачественного молозива и молока, скармливание испорченных кормов, а также инфицирование вирусами и бактериями. Немаловажную роль в симптомакомплексах такого плана играет парвовирусная инфекция крупного рогатого скота, вирусная диарея и инфекционный ринотрахеит [1, 2, 3].

Возникновение массовых заболеваний новорожденных телят пневмоэнтеритами объясняется незрелостью иммунной системы. Заражение животных происходит с первых минут постнатального существования, так как новорожденный теленок попадает в среду активно насыщенную различными агентами, нейтрализации которых способствуют материнские антитела. Для обеспечения колостарального иммунитета необходима активная иммунизация стельных коров определенными вирусными штаммами. Постоянную угрозу вспышек эпизоотий обеспечивает длительная персистенция вирусов и бактерий в организме, а также высокая численность животных на ограниченных территориях.

Таким образом, наиболее объективным способом борьбы с любыми инфекционными заболеваниями является их специфическая профилактика [4]. В настоящее время с целью профилактики вирусных инфекций сельскохозяйственных животных используется огромное количество, как живых, так и инактивированных биологических препаратов. Несмотря на широкое многообразие в современном мире, и зарубежных, и отечественных производителей вакцин, на данном этапе развития науки проблема эпизоотического благополучия хозяйств остается актуальной.

С целью обеспечения поставленной задачи необходимо выполнение ряда условий. Специфическая профилактика с целью повышения сопротивляемости и создания специфической невосприимчивости организма к инфекционным заболеваниям, а также дезинфекция животноводческих помещений, обеспечение полноценного качественного кормления, соблюдение мер по снижению стрессовых факторов на организм и повышение естественной резистентности. Выяснение причин, а точнее непосредственно заболеваний, отрицательно влияющих на иммунный статус поголовья, и их природу [2, 3].

При создании нового вакцинного препарата в первую очередь необходимо взвесить все за и против применения живых и инактивированных вакцин. При использовании живых иммунизирующих препаратов мы получаем более продолжительный и напряженный иммунитет, низкая иммуногенность инактивированных вакцин объясняется применением инактивантов, при введении которых также повышается реактогенность препаратов. Однако живые вакцины обладают рядом отрицательных качеств, инактивированные же которых лишены. При введении живых антигенов имеется вероятность того, что они могут приобретать патогенные свойства и вызывать заболевания у иммунизированных животных, живые агенты длительное время персистируют в организме и, таким образом, может происходить перезаражение не вакцинированного поголовья [4].

Учитывая некоторые отрицательные свойства инактивантов, при их подборе следует обратить внимание на ряд аспектов. Инактивант должен быстро и стабильно инактивировать антигенные фракции при наименьшем его количестве. О качестве производимой вакцины также судят по иммуногенности и реактогенности, которые зависят от выбранного инактиванта.

Цель работы. Изучить влияние различных инактивирующих веществ на парвовирус крупного рогатого скота, вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи используемые при конструировании вакцины.

Материалы и методы исследований. Для отработки метода инаktivации вирусов использовали формалин и теотропин в различных их концентрациях.

Для отработки режимов инаktivации вирусов использовали различные разведения препаратов (от 0,1 до 0,5%) путем добавления в заранее оттитрованную вирусосодержащую жидкость. Препарат добавляли к вирусам до конечных, выше указанных концентраций и выдерживали в термостате при температуре 37°C при периодическом перемешивании. После контакта в течение 12, 24, 48 и 96 часов проверяли полноту инаktivации вирусов, определяя гемагглютинирующую активность в реакции гемагглютинации для парвовируса, о степени инаktivации вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи судили по отсутствию ЦПД вирусов в культурах клеток при проведении 2-3-х последовательных пассажей [5].

Результаты исследований. Результаты исследований полноты инаktivации парвовируса крупного рогатого скота, вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи при использовании различных инаktivированных веществ представлены в таблице 1 и 2.

Таблица 1 – Результаты изучения полноты инаktivации парвовируса, вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи при применении формалина в различных концентрациях

Концентрация формалина, %	Время контакта с инактивантом	Вирус ИРТ		Вирус диареи		Титр парво- в РГА
		Время проявления ЦПД	Результат	Время проявления ЦПД	Результат	
0,1	24 часа	24 часа	++++	24 часа	++++	1:512
0,1	48 часов	24 часа	++++	24 часа	++++	1:512
0,2	24 часа	24 часа	++	24 часа	++	1:128
0,2	48 часов	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:16
0,3	24 часа	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:8
0,3	48 часов	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:8
0,4	24 часа	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:8
0,4	48 часов	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:8
0,5	24 часа	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:4
0,5	48 часов	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:4
Контроль формалина 0,1	-	-	-	-	-	-
Контроль формалина 0,2	-	24 часа (дегенерация клеток)	+	24 часа (дегенерация клеток)	+	24 часа (дегенерация клеток) +
Контроль формалина 0,3	-	24 часа (дегенерация клеток)	+++	24 часа (дегенерация клеток)	+++	24 часа (дегенерация клеток) +++
Контроль формалина 0,4	-	12 часов (дегенерация клеток)	++++	12 часов (дегенерация клеток)	++++	12 часа (дегенерация клеток) ++++
Контроль формалина 0,5	-	12 часов (дегенерация клеток)	++++	12 часов (дегенерация клеток)	++++	12 часа (дегенерация клеток) ++++

Из таблицы 1 видно, что наиболее полная инаktivация парвовируса на культуре клеток ПК 15 происходит при добавлении формалина в 0,5 %-ной концентрации в течение 24 и 48 часов. Уже в 0,3, 0,4 %-ной концентрации формалин инаktivирует вирусы инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи на культуре клеток МДБК. Однако формалин в концентрации 0,5, 0,4 и даже 0,3 и 0,2 % при экспозиции контакта 12 и 24 часа, соответственно, вызывает разрушение монослоя и дегенерацию клеток.

Таблица 2 – Результаты изучения полноты инаktivации парвовируса, вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи при применении теотропина в различных концентрациях

Концентрация теотропина, %	Время контакта с инактивантом	Вирус ИРТ		Вирус диареи		Титр парво- в РГА
		Время проявления ЦПД	Результат	Время проявления ЦПД	Результат	
0,1	24 часа	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:8
0,1	48 часов	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:8
0,2	24 часа	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:4
0,2	48 часов	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:4
0,3	24 часа	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:16
0,3	48 часов	Отсутствие ЦПД	-	Отсутствие ЦПД	-	1:4
0,4	24 часа	24 часа (дегенерация клеток)	-	24 часа (дегенерация клеток)	-	1:16
0,4	48 часов	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:4
0,5	24 часа	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:16
0,5	48 часов	12 часов (дегенерация клеток)	-	12 часов (дегенерация клеток)	-	1:4
Контроль теотропина 0,1	-	-	-	-	-	-
Контроль теотропина 0,2	-	-	-	-	-	-
Контроль теотропина 0,3	-	-	-	-	-	-
Контроль теотропина 0,4	-	24 часа (дегенерация клеток)	+	24 часа (дегенерация клеток)	+	24 часа (дегенерация клеток) +
Контроль теотропина 0,5	-	12 часов (дегенерация клеток)	+++	12 часов (дегенерация клеток)	+++	12 часа (дегенерация клеток) +++

При изучении влияния инактиванта на культуре клеток ПК 15 и МДБК установлено, что добавление на монослой теотропина в концентрации свыше 0,4 % вызывало дегенерацию монослоя в течение 24 часов. Хорошие инактивирующие свойства проявил теотропин в концентрации от 0,1 % до 0,5 % при экспозиции 24 и 48 часов. Учитывая то, что свыше 0,4 % концентрации теотропин вызывает дегенерацию клеток, в работе мы в дальнейшем использовали теотропин в 0,2- 0,3 %-ной концентрации.

Заключение. Учитывая вышеизложенное, следует заключить, наиболее оптимальным для инактивации парвовируса крупного рогатого скота, вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи при культивировании их на культуре клеток ПК 15 и МДБК, соответственно, является использование в качестве инактивирующего вещества теотропин в 0,2 %-ной концентрации при экспозиции контакта 24 часа.

Литература. 1. *Болезни сельскохозяйственных животных* // Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И., Зелютков Ю.Г. и др. Науч. ред. Красочко П.А. – Минск, Бизнесофсет, 2005. – 800 с. 2. Зелютков Ю.Г. *Инфекционные энтериты новорожденных телят* - Витебск, 2006. – 190 с. 3. Красочко, П.А. *Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтеритами телят* / Под ред. П.А. Красочко // Мн., Энциклопедикс, 2000. – 40 с. 4. *Рекомендации по специфической профилактике наиболее распространенных инфекционных болезней крупного рогатого скота в Республике Беларусь: утв. ГУВ МСХ и ПРБ 18 января 2007 г.* / В.В. Максимович [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007.- 54 с. 5. *Химические методы инактивации вирусов* // [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://meduniver.com/Medical/Microbiology/965.html>

УДК: 619:615.281:546.57

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ВЕТЕРИНАРИИ

²Смирнов А.М., ¹Уша Б.В., ²Светличкин В.В., ¹Концевова А.А.

¹ «Московский государственный университет пищевых производств», ветеринарно-санитарный факультет

² «ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Россельхозакадемии»

Показана перспективность различных инновационных направлений в ветеринарии, связанных с разработкой и созданием лекарственных средств и биоцидов на основе кластерного серебра, экспрессных диагностических систем с применением иммунохроматографических элементов с наночастицами коллоидного золота и методов контроля остаточных количества антибактериальных веществ в продукции животного происхождения с использованием иммуномикрочип технологии.

The perspectives on the different and innovative directions in the veterinary science and medicine concerning a development and creation of the drugs and biocides on a base of cluster silver, express diagnostic systems with using the immunochromatographic elements and nanoparticles of colloidal gold and control methods of the antibacterial substances residues in the production of animal origin with using the immunomicrochip technology are demonstrated in the paper.

Ветеринарная наука и практика базируется как на фундаментальных традиционных подходах, так и на инновационных достижениях, полученных в последние годы. Среди различных инноваций перспективными представляются направления связанные с нанобиотехнологией.

Это направление основано на использовании уникальных свойств наноматериалов и нанообъектов для конструирования, контроля и изменения биологических систем на наномолекулярном уровне. Различные аспекты нанобиотехнологии в ветеринарии связаны с разработкой и созданием лекарственных средств для животных, диагностических систем для контроля безопасности и качества сырья и продуктов животного происхождения. Тест-систем по определению инфекционных заболеваний у животных, биоцидов для создания средств, обеспечивающих ветеринарно-санитарное благополучие животноводческих комплексов и перерабатывающих предприятий.

Одним из аспектов нанобиотехнологии в ветеринарии является ДНК-иммуномикрочиповая технология. Она предназначена для одновременной качественной количественной оценки нескольких образцов продукции животного и растительного происхождения, кормов, клинических проб. В основе лежит технология микрочипа, базирующаяся на реакции антиген-антитело или ДНК-гибридизации с хемилюминесцентной меткой. На твердофазном носителе иммобилизованы моноклональные антитела или ДНК-зонды, специфичные к различным агентам (токсинам, гормонам, антимикробным веществам, возбудителям заболеваний, генам, определяющим видовую принадлежность, патогенность, наличие генных модификаций и т.д.). Световой сигнал, генерируемый каждой из тестовых зон биочипа, определяется при помощи технологий получения цифрового изображения и сравнивается с калибровочной кривой. Регистрация конечного результата осуществляется с помощью хемилюминометра. Время реакции составляет от 10 до 20 минут. Весь анализ с пробподготовкой занимает 1 -2 часа.

В настоящее время тест-системы на основе данной технологии позволяют определить следующие вещества: кардиомаркеры, гормоны, стимуляторы роста, онкомаркеры, β-агонисты, стильбены, синтетические стероиды, антибиотики, сульфаниламиды и другие вредные для животных, человека и окружающей среды вещества [5].

С помощью этой технологии нами были проведены исследования, показавшие возможность качественного и количественного определения сульфаниламидов и антибиотиков в сырье и продуктах животного происхождения: меде, мясе и мясопродуктах, рыбе и молоке. В этих исследованиях использовались тест-системы и сканирующий хемилюминометр фирмы "Randox" (Великобритания).

Данная технология позволяет одновременно проводить качественный и количественный анализ нескольких видов продукции или образцов клинического материала в автоматическом режиме, архивировать результаты.