

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ АКТИВНОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ
ПАСТЕРЕЛЛЕЗА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Барашков А. Н., Ханецкий Ю. В., Каменский А. А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь

Изучена в сравнительном аспекте иммунологическая и эпизоотическая эффективность вакцины эмульгированной против пастереллеза крупного рогатого скота, полученной с использованием модифицированной питательной среды для культивирования бактерий и введения в ее состав мелкодисперсного эмульгатора. Установлено, что применение нового отечественного биопрепарата в условиях хозяйства, неблагополучного по данному заболеванию позволяет снизить заболеваемость животных с 17 до 9%.

Immunogenic and epizootological efficiency of emulgated vaccine against bovine pasteurellosis produced on a modified medium with a fine emulgation has been corporately estimated.

The use of the developed compound in pasteurellosis affected farms allows to reduce the morbidity rate from 17% down 9%.

Введение. Анализируя эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням в Республике Беларусь, можно сделать вывод, что благодаря деятельности ветеринарных служб, она является контролируемой.

В число наиболее распространенных заболеваний крупного рогатого скота в Республике Беларусь входит пастереллез, занимая по количеству неблагополучных пунктов третье место после колибактериоза и сальмонеллеза.

Заболеваемость и летальность животных при данной болезни находятся в прямой зависимости от объема и качества проводимой специфической профилактики. Понимая значимость этих мероприятий, в течение 2007 года планируется подвергнуть вакцинации против пастереллеза 673100 животных.

Несмотря на проведение массовой специфической профилактики в республике ежегодно выявляют от 61 до 126 пунктов неблагополучных по этому заболеванию, в которых заболевает от 934 до 2550 животных.

Эмульгированные вакцины против пастереллеза являются наиболее иммуногенными препаратами, однако их применению препятствуют высокая вязкость и чрезмерная реактогенность в месте введения. Использование этих вакцин в условиях промышленного животноводства, особенно в зимнее время, сопряжено с большими трудностями. Кроме того, существенные убытки приносит выбраковка участков мышечной ткани в местах инъекции биопрепарата.

Разработка совместно с сотрудниками УП «Витебская биофабрика» и внедрение в производство нового отечественного препарата против данного заболевания дает возможность отказаться от импорта зарубежных средств, сэкономить валютные средства, и, в полной мере, использовать резерв для увеличения производства продукции – максимально снизить заболеваемость и гибель животных.

Цель нашей работы – определение сравнительной иммунологической и эпизоотической эффективности эмульгированной вакцины против пастереллеза крупного рогатого скота опытного образца и ее производственного аналога – полужидкой вакцины против пастереллеза.

Материалы и методы. При получении эмульгированной вакцины опытного образца была использована новая питательная среда для выращивания пастерелл, разработанная на основе смеси водного, кислотного-ферментативного гидролизатов мясокостной муки и щелочно-перекисного гидролизата сыворотки крови различных животных.

Для получения водного гидролизата мясокостной муки ее ресуспендировали в воде в соотношении 1:9, выдерживали 12 часов при температуре +4°C. Полученную смесь инкубировали при +100°C, отстаивали 24 часа, надосадочную жидкость декантировали, фильтровали и использовали для изготовления среды.

Кислотно-ферментативный гидролизат мясокостной муки получали из осадка при производстве водного гидролизата, фарша свиных желудков со слизистой оболочкой, которые инкубировали при +50°C в течение 20 часов в дистиллированной воде с pH 2,0. Смесь отстаивали при комнатной температуре в течение 24 часов, надосадочную жидкость декантировали, фильтровали и подщелачивали 20% раствором натрия гидроксида до pH 7,0-7,4.

Щелочно-перекисный гидролизат сыворотки крови готовили, смешивая в соотношении 1:1 сыворотку крови и щелочно-перекисный раствор, содержащий 0,4% натрия гидроксида и 0,3% перекиси водорода. Смесь инкубировали при +100°C в течение 60 минут. Далее гидролизат обрабатывали 20% соляной кислотой, фильтровали и стерилизовали.

Об эффективности использования питательной среды для культивирования пастерелл судили по плотности выросших колоний, для чего производили пересевы культуры с жидких сред на плотные.

В качестве эмульгаторов при производстве вакцин опытных образцов применяли адьюванты Монтаниде-ИЗА («Сеппик», Франция): минеральные масла (ИЗА 50, 70), не минеральные масла (ИЗА 708, 763А), смеси минеральных и не минеральных масел (ИЗА 740, 773).

Эмульсии получали путем ввода бактериальной суспензии культуры *P. multocida* в адъюванты Монта-ниде ИЗА. Были подготовлены эмульсии типов «вода в масле», «вода-масло-вода», «масло в воде» с разными соотношениями ингредиентов.

Изготовленные вакцины контролировали на стерильность, стабильность эмульсии, безвредность и иммуногенность.

В результате исследований было установлено, что наиболее стабильная и менее реактогенная эмульсия получена по типу «вода-масло-вода» при введении бактериальной суспензии в смесь минеральных и не минеральных масел (ИЗА 740, 773) при соотношении ингредиентов 1:1, температура перемешивания +20-25°C с частотой 2000 об./мин в течение 20-30 минут.

В исследованиях по определению эффективности приготовленной нами вакцины было использовано 300 телят трехмесячного возраста подобранных по принципу условных аналогов, которые были разделены на три группы по 100 в каждой.

Телятам первой группы использовали двукратно внутримышечно полужидкую гидроокисьалюминиевую вакцину против пастереллеза крупного рогатого скота и буйволов, интервал между инъекциями – 12 дней, доза при первичном введении 5 см³, при повторном – 10 см³.

Животным второй группы применяли однократно внутримышечно вакцину эмульгированную против пастереллеза крупного рогатого скота опытного образца в дозе 3 см³.

Телятам третьей (контрольной) группы внутримышечно вводили плацебо (изотонический раствор натрия хлорида) в дозе 3 см³.

Об иммунологической эффективности вакцин против пастереллеза судили по уровню агглютинирующей активности сывороток крови иммунизированных животных, об эпизоотической эффективности – по количеству заболевших и павших от болезней органов дыхания телят в опытных и контрольной группах.

Цифровой материал, полученный в результате проведения исследований, обрабатывали статистически, используя пакет анализа Microsoft Office Excel XP.

Клиническое наблюдение за иммунизированными животными проводили в течение 90 дней после первичного введения вакцин, содержание альбуминов, γ -глобулинов в сыворотке крови определяли методом электрофоретического разделения в 1% геле агарозы, агглютинирующую активность сыворотки крови к *P. multocida* – микрометодом в реакции непрямой агглютинации.

Забор венозной крови для проведения гематологических, биохимических и серологических исследований проводили от 45 телят, отобранных из 2-х опытных и контрольной группы (по 15 телят из каждой группы).

Первое взятие крови проводили перед введением вакцин. В дальнейшем, взятие крови производили, у животных первой группы, на 7-й день после первичного введения вакцины, на 14-й и 21-й дни после повторного введения. У телят второй группы, соответственно, – на 7-й, 14-й, 21-й дни после однократного введения вакцины.

Исследования крови животных контрольной группы проводили перед постановкой опыта и на 21-й день после введения плацебо.

О реактогенности вакцин судили по наличию местной реакции (повышение температуры тела в месте инъекции, отек, болезненность) и по изменению общего состояния организма (угнетение, отказ от корма).

Результаты. У 74 телят первой группы после введения полужидкой гидроокисьалюминиевой вакцины на второй день отмечалось повышение температуры тела до 39,8-40,3°C. На 3-4 день после повторного введения вакцины температура тела снижалась до нормы. У двух животных наблюдалось угнетение. У остальных телят общее состояние оставалось удовлетворительным, корм и воду они принимали охотно. У всех телят этой группы в различной степени была выражена горячая болезненная припухлость в месте инъекции, которая исчезала без печения через 4-5 дней.

Результаты наблюдения за животными 2-й опытной группы показали, что у 32 телят температура тела увеличилась до 38,6-40,3°C. Общее состояние у других животных группы оставалось стабильным. Местная реакция в месте введения биопрепарата у всех животных отсутствовала.

Результаты гематологических исследований показали, что количество лейкоцитов у животных первой опытной группы увеличивалось на 30%, достигая максимума к 14 дню после второго введения вакцины.

У животных второй опытной группы количество лейкоцитов увеличивалось на 63%, также достигая пика к 14 дню после введения вакцины.

Достоверных изменений количества лейкоцитов в крови животных контрольной группы не отмечено.

Количество эритроцитов у животных первой опытной группы достоверно увеличилось на 11%, достигая максимального уровня ($7,1 \pm 0,10$ млн./мм³) на 7-й день после 1-го введения вакцины, а у животных второй опытной группы – на 30,5%, достигая максимума ($7,7 \pm 0,16$ млн./мм³) к 7-у дню после однократного введения вакцины.

Содержание гемоглобина в крови телят первой опытной группы достоверно увеличивалось на 13%, достигая максимума ($85,3 \pm 2,38$ г/л) к 7-у дню после первого введения вакцины. В дальнейшем, к 14-у дню после 2-го введения вакцины, содержание гемоглобина в крови достоверно уменьшалось на 7,7%.

Содержание гемоглобина в крови животных второй опытной группы достоверно увеличивалось на 10,5%, также достигая пика ($84,9 \pm 2,7$ г/л) к 7-у дню после введения вакцины, в дальнейшем достоверно не изменялось.

Достоверных изменений содержания гемоглобина в крови животных контрольной группы не наблюдалось.

Лизоцимная активность сыворотки крови телят первой группы достоверно увеличилась на 40% ($12,6 \pm 0,46\%$) к 14-у дню после второго введения вакцины, а у телят второй группы увеличилась на 43% ($13,4 \pm 0,21\%$) к 14-у дню после однократного введения.

Уровень бактерицидной активности сыворотки крови животных 1-й опытной группы достоверно уменьшился на 18% к 14-у дню после повторного введения вакцины ($51,9 \pm 1,04\%$), в дальнейшем достоверно восстанавливался до первоначального уровня к 21 дню исследований ($63,3 \pm 1,82\%$).

Содержание общего белка и альбуминов в сыворотке крови телят опытных и контрольной групп за период наблюдения достоверно не изменялись.

Уровень γ -глобулинов в сыворотке крови телят 1-й опытной группы достоверно увеличивалось на 15% к 14-у дню после повторного введения вакцины ($12,7 \pm 0,42$). У животных второй опытной группы их уровень в сыворотке крови увеличивался на 43% ($14,2 \pm 0,27$) к 14-у дню после иммунизации и был достоверно выше соответствующего показателя у телят первой группы на 11%.

Результаты исследований агглютинирующей активности сывороток крови телят, иммунизированных полужидкой гидроокисьалюминиевой вакциной против пастереллеза и эмульгированной вакциной против пастереллеза, представлены на рисунке 1.

Из рисунка 1 видно, что уровень агглютинирующей активности сывороток крови телят, привитых полужидкой гидроокисьалюминиевой вакциной, к 7-у дню после ее первичного введения был равен $1,1 \pm 0,04 \text{ Log } 2$.

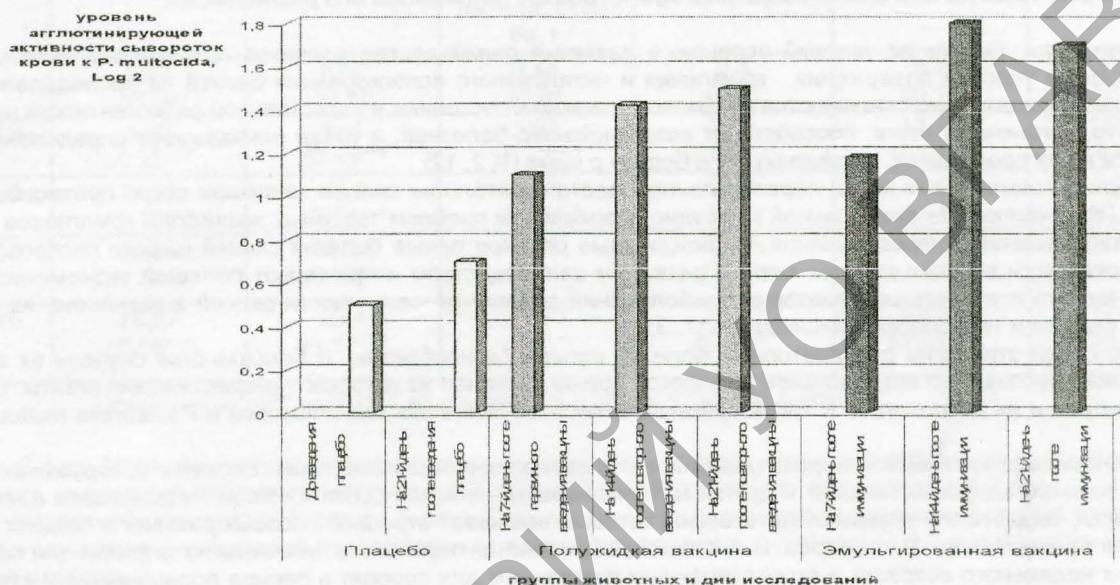


Рис. 1. Агглютинирующая активность сывороток крови телят к *P. multocida*, иммунизированных полужидкой гидроокисьалюминиевой вакциной и эмульгированной вакциной против пастереллеза

К 14-у дню после ее повторного введения уровень агглютинирующей активности увеличивался на 23%, достигая максимального уровня ($1,42 \pm 0,04 \text{ Log } 2$) и был достоверно выше соответствующего показателя у телят во 2-й опытной группе на 17%. В дальнейшем, достоверных изменений агглютинирующей активности сыворотки крови не установлено.

У животных 2-й опытной группы, иммунизированных эмульгированной вакциной против пастереллеза, уровень агглютинирующей активности сывороток крови к 7-у дню после иммунизации был равен $1,18 \pm 0,04 \text{ Log } 2$, на 14-й день после иммунизации мы зафиксировали достоверное увеличение этого показателя на 34% ($1,8 \pm 0,07 \text{ Log } 2$), в дальнейшем достоверных изменений не было.

У телят контрольной группы уровень агглютинирующей активности сывороток крови в день введения плацебо составлял $0,5 \pm 0,10 \text{ Log } 2$, а на 21-й день после его инъекции – $0,7 \pm 0,08 \text{ Log } 2$. Это свидетельствует о том, что сыворотки не иммунизированных против пастереллеза животных обладают слабой агглютинирующей активностью к *P. multocida*.

Использование эмульгированной вакцины в хозяйстве, неблагополучном по пастереллезу крупного рогатого скота, снижает заболеваемость животных болезнями органов дыхания с 17 до 9%, а применение полужидкой формолгидроокисьалюминиевой вакцины – с 17 до 12%.

Заключение. Таким образом, иммуногенная активность, полученной нами, совместно с сотрудниками УП «Витебская биофабрика», эмульгированной вакцины против пастереллеза крупного рогатого скота опытной серии, на 17% достоверно выше, чем полужидкой формолгидроокисьалюминиевой вакцины, что позволяет снизить заболеваемость животных болезнями органов дыхания с 17 до 9%.

Литература: 1. Азарян С. Л. Адьювант для противопастереллезных вакцин : Автореф. дис. канд. вет. наук. 16.00.03 /С. Л. Азарян/ Гос. науч.- конт. ин-т вет.препаратов. - Москва, 1991. – 23с. 2. Лях, Ю. Г. Пастереллез крупного рогатого скота (Элизоотологии и специфическая профилактика) : Автореф. дис. канд. вет. наук. 16.00.03 /Ю. Г. Лях/ Акад. Аграр. Наук Респ. Беларусь, БелНИИЭВ. –Минск: б. и., 1994. – 21 с. 3. Масимов, Н. А. Пастереллез животных: лекция / Н. А. Масимов. – Москва: МГАВМ и Б им. К. И. Скрябина, 1995. – 28 с. 4. Ярцев, М. Я. Разработка технологии вакцин против пастереллеза животных и птиц / М. Я. Ярцев // Ветеринария. – 1996. – № 2. – С. 17 – 19. 5. Barnett, P. V. International bank for food-and-mout disefse vaccinte / Barnett P. V., Pullen L., Williams L., Doel T. R./ Vaccine. – 1996. Vol. 14, N 13. – P. 1187 – 1198. 6. S. Reddy, G.S. Immunity conferred by oil-adjuvant haemorrhagic septicaemia vaccine / S. Reddy G. S., K. L. A. Rao, V.A. Srinivasan // Indian J. of Animal Sciences. – 1997. – Vol. 67 (9). – P. 764 – 765.