

ВЛИЯНИЕ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА КОРОВ

**П. А. КРАСОЧКО, И. А. КРАСОЧКО, С. Л. ГАЙСЕНКО,
Е. Л. ГАЙСЕНКО, В. В. ОВЧИННИКОВА, Е. И. ВОЛОСЮК**

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026*

(Поступила в редакцию 29.01.2019)

В статье приведены данные по получению, лабораторным испытаниям, изучению влияния инактивированной вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота на состояние иммунитета, гематологические и биохимические показатели организма.

Ключевые слова: *вирусная диарея, вакцина, иммунитет, крупный рогатый скот.*

The article presents data on obtaining, laboratory testing, studying the effect of inactivated vaccine against viral diarrhea in large horned livestock on the state of immunity, hematological and biochemical indices of the organism.

Key words: *viral diarrhea, vaccine, immunity, cattle.*

Введение. Из всего многообразия болезней, вызываемых вирусами, в хозяйствах Республики Беларусь широко распространена вирусная диарея, которая наносит огромный экономический ущерб сельскому хозяйству [8]. При исследовании сывороток крови на наличие титров антител установлено, что практически у всех животных выявляются антитела к вирусу диареи [3].

Одним из основных методов борьбы с указанной болезнью является специфическая профилактика. По требованиям, вакцина должны защищать крупный рогатый скот в случае возникновения болезни и заметно уменьшить последующее распространение полевого вируса. Вакцина не должна вызывать болезнь, аборт, или любую местную или системную реакцию. В связи с этим возникает необходимость разработки инактивированной вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота для иммунизации стельных коров и телят [1, 12].

Анализ источников. В структуре заболеваний молодняка крупного рогатого скота болезни вирусной этиологии занимают одно из ведущих мест. При традиционной технологии ведения скотоводства на долю этих болезней приходится 34,1–47 %, а при промышленной – свыше 60 % всех случаев заболевания молодняка [2, 10]. Согласно различным литературным источникам, этим заболеваниям подвержено до 82–100 % молодняка крупного рогатого скота до одного года, а часть их (9,6–17,2 %) переболевает неоднократно. Так, согласно ветеринарной

отчетности, заболеваемость телят с поражением респираторных и желудочно-кишечных органов достигает до 220–260 % от числа родившихся, т. е. каждый новорожденный теленок переболевает до 6 месячного возраста 2–3 раза. В этиологической структуре инфекционных заболеваний телят существенное значение играют такие возбудители, как вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальный, рота- и коронавирусы. При переболевании вышеуказанными болезнями сельскому хозяйству наносится значительный экономический ущерб, который складывается из затрат на лечение, малоэффективную профилактику; снижения продуктивности переболевшего молодняка и падежа телят [9].

Одним из основных возбудителей болезни телят вирусной этиологии является вирус диареи. Так, вирус диареи вызывает заболевание у новорожденных телят с признаками поражения желудочно-кишечного тракта, у телят старше 1-месячного возраста с признаками поражения органов дыхания, у взрослых животных – поражение репродуктивных органов. Кроме того, вирус диареи, обладает выраженным иммунодепрессивным действием [4, 7].

Проведенными ранее исследованиями установлено, что антитела к вирусу диареи встречаются у 80–85 % у невакцинированных коров и у 61–65 % телят. При этом в основном болезнь протекает в виде ассоциаций, течение которых более тяжелое [6].

В настоящее время для специфической профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота используется ряд моно- и ассоциированных живых и инактивированных вакцин. Однако до сих пор существует проблема применения этих вакцин, не показана их эффективность при использовании в хозяйствах различного типа и уровня иммунологического статуса [1, 11].

Цель работы: изучить влияние инактивированной вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота на состояние иммунитета, гематологические и биохимические показатели организма.

Материал и методика исследований. Для определения влияния вакцины на основные показатели иммунитета, гематологические и биохимические показатели организма крупного рогатого скота исследования проводились на базе ОАО «Гастеловское» Минского района.

Для проведения опыта были сформированы 2 группы коров, по 10 голов в каждой. Коровы опытной группы иммунизированы инактивированной вакциной против вирусной диареи крупного рогатого скота. В соответствии с инструкцией по применению животным контрольной группы введен стерильный изотонический раствор по той же схеме.

В процессе наблюдения за животными для изучения гуморального и клеточного иммунного ответа организма отобраны пробы крови и изучены основные показатели специфического и неспецифического гуморального и клеточного иммунитета.

Результаты исследований и их обсуждение. В условиях РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» была разработана инактивированная вакцина против вирусной диареи крупного рогатого скота. Приготовление вакцины включало следующие этапы: получение культуры клеток; подготовка посевных вируса диареи и заражение производственной партии культуры клеток; изготовление и бактериологический контроль вакцины; инаktivация вируса диареи и внесение адьюванта; проверка стерильности, активности и безвредности. Следующим этапом исследований явилось проведение испытаний опытной партии вакцины на соответствие ТУ. При этом нами изучались: внешний вид; стабильность эмульсии; безвредность; стерильность; иммуногенность вакцины.

По внешнему виду вакцина представляет собой эмульсию белого розового цвета без посторонних примесей и плесени, при хранении допускается образование на поверхности маслянистого слоя белого цвета, при встряхивании вакцины образуется равномерная эмульсия.

Стабильность эмульсии проводили путем центрифугирования пробирок с вакциной в течение 20 мин при 2000 об/мин. Высоту образовавшегося прозрачного столбика над не расслоившейся эмульсией измеряли линейкой. Вакцина была стабильной – после центрифугирования эмульсия не расслаивалась.

Безвредность опытной партии вакцины определяли путем ее подкожного введения 10 белым мышам массой 18–20 г в тест-дозе 0,2 мл. В результате наблюдения за животными в течение 10 дней все мыши были живы, признаков угнетения не отмечено, на месте введения припухлостей и некрозов не выявлено. Полученные данные свидетельствуют, что биологический препарат является безвредным для лабораторных животных.

Стерильность опытной партии вакцины устанавливали путем посева вакцины в мясо-пептонный бульон (МПБ), на мясо-пептонный агар (МПА), среду Сабура и Китта-Тароцци в соответствии с ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Методы бактериологического контроля стерильности». В результате наблюдения в течение 10 дней в посевах видимого роста микроорганизмов не обнаружено, что указывает на стерильность биологического препарата.

Контроль иммуногенности активности опытной партии инактивированной вакцины для профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота определяли на морских свинках (n=10) массой 300–400 г.

Морские свинки были иммунизированы в дозе 1 мл двукратно с интервалом 14 дней. Перед вакцинацией и по окончании опыта через 21 день после второго введения вакцины были отобраны сыворотки крови для исследования в РНГА на наличие антител. Контрольным животным вводился стерильный изотонический раствор в тех же дозах (табл. 1).

Таблица 1. Титры противовирусных антител ($\log_2$) в сыворотке крови вакцинированных животных против вирусной диареи

Группы животных	Титр антител до иммунизации	Титр антител через 21 день после иммунизации
Животные, иммунизированные вакциной опытной серии	2,3	5,9
Контроль	2,2	2,4

Приведенные данные свидетельствуют о том, что вакцина опытно-го образца обладает высокой иммуногенностью и его можно использовать для вакцинации сельскохозяйственных животных.

Для определения оптимальной иммунизирующей дозы инактивированной вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота исследования проводились в ОАО «Гастеловское» Минского района, где было сформировано по принципу аналогов 5 групп коров по 5 голов в каждой. Животным 1, 2, 3 и 4 групп вводилась вакцина в дозах соответственно 1 мл, 2 мл, 5 мл, 7 мл с интервалом 21 день. Животные 5-й группы служили контролем.

Полученные результаты показывают, что оптимальной дозой вакцины для сельскохозяйственных животных является 5,0 мл при двукратном введении с интервалом в 21 день. При этом титр противовирусных антител составляет $5,6 \pm 0,25 \log_2$, тогда как в контроле – $2,4 \pm 0,24 \log_2$. Хотя титр антител у животных вакцинированных в дозе 7,0 мл был и выше ($6,0 \pm 0,32 \log_2$), но у животных отмечена припухлость на месте введения, что свидетельствует о реактогенности биопрепарата.

Для определения влияния вакцины на основные показатели иммунитета, гематологические и биохимические показатели организма крупного рогатого скота было сформировано 2 группы животных, по 10 голов в каждой. Коровы опытной группы иммунизированы вакциной опытной серии в соответствии с наставлением по применению. Животным контрольной группы введен стерильный изотонический раствор.

В табл. 2 представлены сведения о количестве Т- и В-лимфоцитов в разные сроки после вакцинации.

Таблица 2. Изучение состояния клеточного иммунитета у коров, иммунизированных инактивированной вакциной против вирусной диареи крупного рогатого скота (*10⁹/л)

Срок взятия крови	Группы животных	Показатель	
		Т-лимфоциты	В-лимфоциты
До иммунизации	Опытная	25,9±0,4	16,7±0,8
	Контрольная	25,7±0,5	16,8±1,5
Через 10 дней	Опытная	31,3±0,8	22,5±0,8
	Контрольная	26,4±0,7	17,3±1,4
Через 21 день	Опытная	26,3±0,7	20,7±0,9
	Контрольная	24,5±0,4	16,1±1,9
Через 30 дней	Опытная	35,4±0,8	24,8±0,8
	Контрольная	26,8±0,8	17,6±1,8
Через 45 дней	Опытная	32,7±0,8	23,8±1,1
	Контрольная	24,3±0,7	15,4±1,8
Через 60 дней	Опытная	28,1±0,8	21,6±1,5
	Контрольная	24,6±0,4	17,8±1,1

Формирование поствакцинального противовирусного иммунитета характеризуется увеличением Т- и В-лимфоцитов. Полученные нами результаты формирования клеточного иммунитета свидетельствуют, что уже на 10-й день после вакцинации отмечается их существенное увеличение – соответственно на 5,4 и 5,8 %. Максимальное увеличение этих показателей отмечено на 30-й день после иммунизации – на 9,5 и 8,1 %.

В табл. 3 представлена динамика поствакцинальных антител у коров, иммунизированных инактивированной вакциной против вирусной диареи крупного рогатого скота.

Таблица 3. Результаты изучения титров противовирусных антител в сыворотке крови коров, иммунизированных инактивированной вакциной против вирусной диареи крупного рогатого скота

Дни взятия крови	Антитела к вирусу диареи, log ₂	
	опыт	контроль
до вакцинации	2,1	1,8
через 14 дней	3,1	2,1
через 28 дней	4,1	1,4
через 45 дней	4,9	1,2
через 60 дней	6,3	1,0

Полученные результаты свидетельствуют о том, что вакцинация коров инактивированной вакциной для профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота способствует существенному биосинтезу противовирусных антител.

При изучении влияния инактивированной вакцины против вирусной диареи крупного рогатого скота на основные гематологические показатели организма коров получены следующие результаты. Показатели клеток белой и красной крови у коров после вакцинации инакти-

вированной вакциной против вирусной диареи крупного рогатого скота свидетельствуют, что вакцина не оказывает отрицательного влияния на организм крупного рогатого скота. Разница между содержанием эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в крови статистически недостоверна, что указывает на безвредность вакцины. Для изучения влияния инаktivированной вакцины для профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота на биохимические и иммунологические показатели организма крупного рогатого скота были определены следующие показатели: содержание в сыворотке крови общего белка, альбуминов, глобулинов, кальция, фосфора, железа, глюкозы, холестерина, аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ), билирубина (общего и прямого), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), магния, мочевины, креатинина, также определяли альбумин – глобулиновое, кальций-фосфорное отношения и коэффициент Де-Ритиса.

Содержание общего белка в сыворотке крови коров опытной и контрольной групп отличалось незначительно. Незначительное повышение уровня общего белка на 10-й день после вакцинации (с $84,55 \pm 2,61$ г/л до $107,30 \pm 3,77$ г/л, в опыте с $85,31 \pm 2,91$ г/л до $104,30 \pm 3,91$ г/л в контроле) говорит о некоторой интенсификации иммунологических процессов после введения вакцины и связано с увеличением количества глобулинов (с $46,07 \pm 3,61$ г/л до $53,12 \pm 5,26$ г/л и $65,77 \pm 6,73$ г/л на 10-й и 25-й день в опытной группе и с $49,02 \pm 3,05$ г/л на 10 день до $56,71 \pm 10,40$ г/л на 25-й день в контрольной группе).

Однако на 45 день происходит снижение показателей общего белка до значений, близких к исходным ($93,15 \pm 1,93$ г/л и $90,68 \pm 3,26$ г/л в опыте и контроле соответственно), следовательно вакцина не вызывает глубоких изменений в белковом обмене иммунизированных коров.

Колебания уровня альбуминов незначительны, что подтверждает отсутствие нарушений белкового обмена у глубоко стельных коров под действием вакцины.

Заключение. Иммунизация инаktivированной вакциной против вирусной диареи активизирует клеточный и гуморальный иммунитет у вакцинированных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.]; под ред. Н. А. Ковалева. – Минск: Беларуская навука, 2016. – 492 с.
2. Глотов, А. Г. Стратегия и принципы контроля вирусной диареи крупного рогатого скота (обзор литературы) / А. Г. Глотов, Т. И. Глотова // Ветеринария. – 2018. – №8. – С. 3–12.
3. Красочко, И. А. Вирусная диарея крупного рогатого скота (лабораторная диагностика и распространение в Беларуси) [Текст] : автореферат дис. ... канд. ветеринарных наук : 16.00.03 / И. А. Красочко ; Академия аграрных наук Республики Беларусь,

Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. – 1993. – 20 с.

4. Корочкин, Р. Вирусная диарея крупного рогатого скота [Текст] / Р. Корочкин // Ветеринарное дело. – 2016. – №4. – С. 19–22.

5. Ламан, А. М. Иммунологическая активность трехвалентной инактивированной вакцины против вирусной диареи, рота- и коронавируса инфекции крупного рогатого скота / А. М. Ламан // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2018. – №2. – С. 53–57.

6. Методические рекомендации по изучению культуральных, антигенных, генетических свойств и инфекционной активности производственных и эпизоотических штаммов вируса диареи крупного рогатого скота / Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского; сост. П. А. Красочко [и др.]. – Минск, 2016. – 20 с.

7. Корочкин, Р. Частная ветеринарная вирусология: учеб. пособие / Р. Б. Корочкин, А. А. Вербицкий. – Минск: ИВЦ Минфина, 2018. – 400 с.

8. Эпизоотология и инфекционные болезни: учебник / В. В. Максимович [и др.]; под ред. В. В. Максимовича. – 2-е изд., перераб. и доп. – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. – 824 с.

9. Эпизоотология с микробиологией : учебник для учащихся учреждений образования, реализующих образовательные программы среднего специального образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. В. Максимович [и др.]; ред. В. В. Максимович. – Минск: РИПО, 2017. – 543 с.

10. Дифференциальная диагностика болезней животных : практ. пособие / А. И. Ятусевич, [и др.]. – Минск: Техноперспектива, 2010. – 449 с.

11. Красочко, П. А. Диагностика, профилактика и терапия респираторных желудочно – кишечных заболеваний молодняка / П. А. Красочко, И. А. Красочко // Проблемы патологии, санитарии и бесплодия в животноводстве : материалы международной научно-практической конференции, Минск, 10–11 декабря 1998г. / Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского; ред.: Н. А. Ковалев [и др.]. Минск, 1998. – С. 15–18.

12. Красочко, П. А. Биотехнологические основы конструирования использования иммунобиологических препаратов для молодняка крупного рогатого скота: автореферат дис....докт. биологических наук : 03.00.23 / П. А. Красочко; Федеральное государственное учреждение Всероссийский научно-исследовательский технологический институт биологической промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук. – Щёлково, 2009. – 46 с.