

ИММУННЫЙ ОТВЕТ У КОРОВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ В СТАДАХ

Красочко П. П.¹, Ярыгина Е. И.², Яромчик Я. П.¹, Кашко Л. С.³, Кугелев И. М.³

¹ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь, e-mail: krasochko@mail.ru

² ФГБУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина»

³ ФГБУ ВПО «Смоленская государственная сельскохозяйственная академия»

Цель исследований – оценка антителообразования у коров на вакцинацию против инфекционного ринотрахеита в зависимости от серологического статуса животных в стадах. Применение животным как живых, так и инактивированных вакцин по стандартной схеме в хозяйствах, не проводящих вакцинацию против ИРТ КРС, приводит к образованию высокого титра противовирусных антител. В хозяйствах, в которых происходит вакцинация животных против ИРТ КРС, как правило, наблюдается хороший иммунный ответ, а также обеспечивается защита новорожденных телят от данного вида инфекции. В хозяйствах, где постоянно вакцинируют животных против ИРТ КРС, после введения вакцин отмечают высокий уровень антителообразования ответа, но при этом большая эффективность отмечается при однократном применении вакцин.

Ключевые слова: *инфекционный ринотрахеит, крупный рогатый скот, иммунный ответ, живые и инактивированные вакцины, иммуноферментный анализ*

Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота (ИРТ КРС) известная и широко распространенная болезнь в странах с развитым животноводством, в том числе и в странах СНГ. Практически каждое животноводческое предприятие, не проводящее специфическую профилактику, сталкивается с тем или иным проявлением болезни, как у молодняка, так и у взрослых животных. Инфекционный ринотрахеит у крупного рогатого скота наиболее часто проявляется в респираторной, генитальной и abortивной формах и наносит значительный экономический ущерб животноводству.[6]

Одним из эффективных способов борьбы с ИРТ КРС является отмена вакцинации и оздоровление стад путем элиминации сероположительных животных и постоянного серологического мониторинга. Такой путь решения проблемы выбрали ряд европейских стран. Во многом этому способствовали государственные субсидии для фермеров и относительно небольшое поголовье. Для стран СНГ, где среднее поголовье на фермах в 5–10 раз выше, такой подход неприемлем. Поэтому для контроля заболеваемости проводятся плановые профилактические мероприятия. [1]

Несмотря на восприимчивость к ИРТ КРС всех возрастных групп крупного рогатого скота, наиболее подверженной заражению являются новорожденные телята. Во многом это обусловлено отсутствием специфических антител после рождения и нарушением базовых принципов выращивания молодняка. Также единовременная поголовная вакцинация, применяемая в некоторых хозяйствах, приводит к меньшему количеству антител к моменту отела у части животных по сравнению с вакцинированными сухостойными коровами. И как следствие, у части телят не формируется напряженный колостральный иммунитет. Поэтому при вакцинации коров основной целью является максимально возможная активация гуморального звена иммунитета для достижения максимального уровня специфических в крови. [2, 5]

В настоящее время на рынке биопрепаратов имеется большое разнообразие вакцин для профилактики ИРТ КРС: живые и инактивированные, моновакцины и ассоциированные, а также маркерные. В свою очередь ветврачи в хозяйствах ввиду различных причин используют разный подход к профилактике данной болезни – от отсутствия вакцинации до использования живых или инактивированных вакцин. В некоторых случаях имеется необходимость замены вида вакцины или принимается решение начать профилактику ИРТ КРС, но в литературных данных отсутствуют какие-либо данные по иммунному ответу на фоне высокого или низкого содержания специфических антител на разные типы вакцин. В связи с этим **целью** исследований явилась оценка антителообразования у коров на вакцинацию против инфекционного ринотрахеита в зависимости от иммунного фона животных в стадах.

Материалы и методы. Для проведения исследования нами были подобраны 3 типа хозяйств: не вакцинирующие животных против ИРТ КРС (№ 1), вакцинирующие инактивированной вакциной (№ 2) и вакцинирующие живой вакциной (№ 3).

При постановке опыта были сформированы 8 групп по 5–10 голов в группе из клинически здоровых коров. Критерием отбора животных служил обязательный низкий фоновый уровень специфических антител (отрицательный в ИФА – коэффициент блокировки на уровне сомнительного результата), а также как минимум вторая лактация у коров. Все группы, за исключением контрольной, подвергались двукратной вакцинации отдельными вакцинами в соответствии с инструкциями по применению, при этом стельные животные не обрабатывались живыми вакцинами во избежание возможных аборт. Отбор крови проводили в первый день опыта, на 10, 21 (день ревакцинации), 35 и 60 день.

Таблиця 1 – Схема опыта по изучению гуморального иммунного ответа на введение разных типов вакцин

Группа животных	Наименование вакцины	Доза, см ³
Группа №1	Вирус-вакцина живая культуральная против ИРТ КРС	2
Группа №2	Вирус-вакцина трехвалентная живая культуральная против ИРТ КРС, ВД и ПГЗ – «Тривак»	3
Группа №3	Вирус-вакцина поливалентная инактивированная культуральная против ИРТ КРС, ВД, рота- и коронавирусной инфекции – «Тетравак»)	5
Группа №4	Вакцина живая Bovishield Gold	2
Группа №5	Вакцина инактивированная «Комбовак» (в случае хозяйства №1) Вакцина инактивированная эмульгированная против ИРТ КРС (в случае хозяйств №2 и №3)	3
Контрольная группа	Физиологический раствор	3

Для определения уровня специфических антител в сыворотках крови, отобранных в хозяйстве № 1, использовали диагностический ИФА набор IDEXX IBR X3. Постановку реакции проводили в соответствии с инструкцией по применению. Сыворотки разводили 1:2 и использовали в реакции. Время первичной инкубации составляло 2 часа. Учет результатов проводили на длине волны 450 нм. [4]

При обработке результатов использовали формулу расчета коэффициента блокирования антител, выраженную в процентах. Чем выше коэффициент блокировки, тем выше содержание антител.

Для определения уровня специфических антител в хозяйствах № 2 и № 3 использовали диагностический ИФА набор IDEXX Infectious bovine rhinotracheitis antibody test kit. Постановку реакции проводили в соответствии с инструкцией по применению для образцов от контрольных животных. Сыворотки от иммунизированных животных разводили 1:500 для более достоверной разницы между высокими значениями количества антител и использовали в реакции. Время первичной инкубации составляло 2 часа. Учет результатов проводили на длине волны 450 нм.

При обработке результатов использовали формулу расчета коэффициента отношения оптической плотности образца к среднему значению положительного контроля, т.е. чем выше коэффициент, тем выше титр антител.

Результаты исследований. Первый эксперимент был проведен в хозяйстве, не проводящим вакцинацию против ИРТ КРС какими-либо вакцинами. Хозяйство характеризуется благополучной эпизоотической обстановкой в отношении инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, но при этом в зимне-весенний период наблюдаются вспышки болезни среди молодняка с характерными для ИРТ клиническими признаками. Как показало предварительное серологическое исследование, практически все животные имели специфические антитела против ИРТ, но в невысоких титрах. В связи с чем, опытные группы были сформированы из животных имеющих наименьшее их содержание. Динамика поствакцинального иммунного ответа представлена в табл. 2.

Таблиця 2 – Поствакцинальный ответ на введение различных вакцин в хозяйстве, не проводящем специфическую профилактику ИРТ КРС

№ группы	Наименование вакцины	День отбора крови				
		1	10	21	35	60
1	Вирус-вакцина живая культуральная против ИРТ КРС	8,79±2,75	88,04±2,44	13,75±3,97	81,34±3,04	82,15±1,84
2	«Тривак»	9,33± 2,78	84,60±1,65	82,67± 2,08	90,88± 1,01	90,85± 1,10
3	«Тетравак»	10,14±4,65	86,73±2,30	89,33± 2,27	95,90± 0,30	96,09± 0,20
4	«Bovishield Gold»	8,34± 1,24	79,34±1,78	90,92± 1,17	95,43± 0,41	96,44± 0,20
5	«Комбовак»	17,35±8,07	66,18±8,23	88,73± 2,84	94,05± 0,89	92,80± 1,26
6	Контроль	10,21±1,81	19,07±5,31	33,00± 8,59	28,15± 8,00	31,85± 9,14

Как видно из таблицы, во всех опытных группах наблюдается хороший иммунный ответ на введение вакцин, и к 60 дню коэффициент блокирования антител превышает 80 %. При этом, в опытной группе 3 (вакцина «Тетравак») и опытной группе 4 (вакцина «Bovishield Gold») количество антител достигло практически максимально возможного в данной реакции и составило 96,1 и 96,4 % соответственно.

Следующие эксперименты были проведены в хозяйствах, профилактирующих ИРТ КРС с помощью живых или инактивированных вакцин. На фоне проводимой вакцинации все животные имели средний уровень антител к моменту начала опыта. Контрольные группы в обоих экспериментах не показали существенного изменения содержания антител. Динамика антител в опытных группах представлена в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Поствакцинальный ответ на введение различных вакцин в хозяйстве, использующем инактивированную вакцину против ИРТ КРС

№ группы	Наименование вакцины	День отбора крови			
		1	21	35	60
1	Вирус-вакцина живая культуральная против ИРТ КРС	0,787±0,199	1,131±0,115	0,968±0,116	0,805± 0,130
2	«Тривак»	0,846± 0,234	1,121±0,179	1,256± 0,086	0,971± 0,234
3	«Тетравак»	0,890±0,174	1,847±0,113	1,591± 0,162	1,317± 0,163
4	«Bovishield Gold»	0,709± 0,240	1,504±0,357	1,210± 0,244	1,058± 0,429
5	«Вакцина инактивированная эмульгированная против ИРТ КРС»	0,682± 0,220	1,287±0,206	1,198± 0,178	0,950± 0,133
	Контроль	2,602±0,045	2,712±0,079	2,863± 0,103	2,747± 0,084

При анализе результатов опыта в хозяйстве, применяющем инактивированную вакцину, выявляется следующая закономерность: ввиду наличия среднего уровня антител на фоне предыдущих вакцинаций живые вакцины (опытные группы 1, 2 и 4) при двукратном применении показывают более низкую эффективность по сравнению с инактивированными (опытные группы 3 и 5). При этом, если ограничится однократным применением, то их иммуногенная активность будет на уровне двукратного применения инактивированных вакцин.

Таблица 4 – Поствакцинальный ответ на введение различных вакцин в хозяйстве, использующем живую вакцину против ИРТ КРС

№ группы	Наименование вакцины	День отбора крови			
		1	21	35	60
1	Вирус-вакцина живая культуральная против ИРТ КРС	2,258± 0,110	2,631± 0,090	2,424± 0,210	1,661± 0,264
2	«Тривак»	1,590± 0,230	2,350± 0,100	2,358± 0,153	1,643± 0,238
3	«Тетравак»	2,243± 0,240	2,371± 0,390	2,750± 0,218	1,974± 0,246
4	«Bovishield Gold»	1,639± 0,970	1,883± 0,320	1,321± 0,203	1,243± 0,296
5	«Вакцина инактивированная эмульгированная против ИРТ КРС»	2,878± 0,100	2,390± 0,260	2,992± 0,037	1,955± 0,127
6	Контроль	1,812± 0,214	1,784± 0,154	1,855± 0,312	1,832± 0,116

В последнем опыте отмечается более высокая иммуногенность у инактивированных вакцин при двукратном применении, и также наблюдается закономерность более высокой активности живых вакцин при однократной вакцинации.

Ввиду применения живой вакцины для профилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у животных сохраняется высокий фоновый уровень антител к следующей вакцинации. Вероятно, с этим связана более низкая иммуногенная активность вакцины «Bovishield» по сравнению с другими вакцинами. Так как эта же вакцина на постоянной основе используется для профилактики, то специфические антитела против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота более активно инактивируют ее вирус, по сравнению с вакциной «Тривак», где используется другой штамм вируса.

Обсуждение результатов. Живые и инактивированные коммерческие вакцины во всех типах хозяйств показали хорошую иммуногенность и выработку высокого уровня антител. При этом были выявлены закономерности, которые позволяют оптимизировать использование биопрепаратов при профилактических мероприятиях.

Ввиду широкой степени циркуляции вируса ИРТ КРС в Республике Беларусь у животных практически на любой ферме выявляется фоновый уровень антител, что дает положительную реакцию в ИФА. При этом он может быть низким, при циркуляции низкопатогенных штаммов, и высоким при периодическом переболевании животных. Если фоновый уровень антител низкий, то профилактический эффект легко оценивается по существенному приросту антител не зависимо от типа используемой вакцины, что и было нами установлено в хозяйстве № 1. При таких условиях оба типа вакцин показывают отличные результаты иммуногенности.

В другом случае, когда фоновый уровень антител высокий, эффективность проводимой вакцинации практически невозможно оценить серологически. Животные с высоким фоновым уровнем антител с последующей вакцинацией инактивированной вакциной не показала существенного прироста уровня антител, так как он и так был на достаточно высоком уровне. Поэтому судить об эффективности вакцинации в таких условиях возможно только по признакам снижения заболеваемости и сохранности молодняка. Ввиду циркуляции средне- и высокопатогенных штаммов вируса ИРТ КРС, или активизация низкопатогенных ввиду нарушений условий содержания кормления или стресса животных, в хозяйствах, не вакцинирующих животных против ИРТ КРС, логичным приемом при профилактике будет использование живых вакцин для вытеснения циркулирующих эпизоотических штаммов вируса вакцинным штаммом. А после нормализации эпизоотической обстановки по ИРТ КРС переходить к использованию инактивированных вакцин, как более безопасных.

Таким образом, в хозяйствах, не проводящих профилактику ИРТ КРС, и решивших ее проводить первоначально следует определить серологический статус своего поголовья, то есть фоновый уровень антител. По результатам данного исследования определить тип вакцины для применения. При низком фоновом уровне следует использовать инактивированные вакцины, а при высоком – живые. Причем при использовании живых вакцин следует контролировать показатели заболеваемости. При сохранении заболеваемости с характерными клиническими признаками ИРТ КРС, показателей воспроизводства, оплодотворяемости коров и количества абортосов на том же уровне или ее повышении на фоне проводимой вакцинации следует отказаться от применения живой вакцины ввиду произошедшей реверсии вируса. Также не следует забывать, что без устранения нарушений в технологии содержания, выращивания и кормления скота профилактический эффект от вакцинации может вообще не наблюдаться.

Хозяйства, проводящие профилактику ИРТ КРС как живыми, так и инактивированными вакцинами, к следующей плановой вакцинации имеют средний или ниже среднего уровня антител. Ввиду постоянной вакцинации их иммунная система хорошо отвечает на введение вакцины и образуется высокий уровень антител. Поэтому закономерности формирования гуморального иммунного ответа одинаковы независимо от типа используемой вакцины.

При двукратной вакцинации животных в данных типах хозяйств в соответствии с инструкциями по применению вакцин отмечается прирост уровня антител по сравнению с изначальным, что показывает иммуногенность вакцин. При этом иммуногенность инактивированных вакцин в результате оказывается выше, по сравнению с живыми вакцинами, независимо от того, какой тип вакцины применялся до этого в хозяйстве на постоянной основе. Однако, при более детальном исследовании динамики образования антител оказывается, что наибольший прирост уровня антител наблюдается при однократном использовании живой или инактивированной вакцины к 21 дню. А повторное введение дозы вакцины на 20–21 день негативно влияет на прирост антител и их уровень снижается, хотя и остается к 60-му дню выше изначального перед вакцинацией. С иммунологической точки зрения этот факт можно объяснить тем, что постоянно вакцинируемые против ИРТ КРС животные имеют большое количество клеток иммунной памяти. Это приводит к быстрой их активизации при попадании антигена в организм (вакцинации) и генерации сильного иммунного ответа в короткие сроки. Поэтому мы наблюдаем подъем антител до высокого уровня. Повторное же введение вакцины приводит к нейтрализации части выработанных антител и введенного антигена, и соответственно снижению иммунизирующей дозы антигена. Поэтому принцип усиления иммунного ответа повторной дозой вакцины через 14–21 день у невакцинированных животных, в случае животных, планомерно вакцинируемых, не работает. Иммунная система невакцинированных животных при введении первой дозы вакцины сенсibiliзируется, то есть «ознакомливается» с новым антигеном, и формирует специфические клетки. При повторном введении дозы вакцины эти клетки активизируются и дают сильный иммунный ответ. В случае же ранее вакцинированных животных, их иммунная система ранее была сенсibiliзирована, и с первым введением известного антигена генерирует сильный иммунный ответ.

В связи с этими экспериментальными данными можно сделать вывод, что в хозяйствах, планомерно вакцинирующих животных против ИРТ КРС, достаточно однократного введения вакцины для получения максимального уровня гуморального иммунного ответа.

Список литературы

1. Закутский, Н.И. Состояние, перспективы профилактики и борьбы с инфекционным ринотрахеитом крупного рогатого скота в Российской Федерации / Н. И. Закутский // Биолого-экологические проблемы заразных болезней диких животных и их роль в патологии сельскохозяйственных животных и людей : материалы Международной научно-практической конференции, 16–18 апреля 2002 г. / Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии. – Псков: ВНИИВиМ, 2002. – С. 116–118.
2. Машеро, В. А. Инфекционные болезни телят : [монография] / В. А. Машеро. – Витебск : ВГАВМ, 2006. – 263 с.
3. Методические рекомендации по специфической профилактике и мерам борьбы с респираторными инфекциями телят / В.В.Максимович, Я.П.Яромчик, П.П.Красочко, Ю.В.Ломачко, Н.И.Костюк, В.П.Красочко // Утверждены Департаментом ветеринарного и

продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики (№ 0624/4 от 23.01.2015 г.. Изд. РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского», Минск, 2015. – 36 с.1

4. Инструкция по применению тест-системы IDEXX IBR X3 для выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота
5. Инфекционная патология животных : в 2 т. / ред. А. Я. Самуйленко [и др.]. – Москва : Академкнига, 2006. – Т. 1. – 1911 с.
6. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота / А. Г. Глотов [и др.] ; рец.: В. В. Храмцов, В. М. Балышев. – Новосибирск, 2006. – 194 с.

IMMUNE RESPONSE IN COWS AFTER IMMUNIZATION AGAINST INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS ACCORDING TO SEROLOGICAL STATUS OF ANIMALS IN HERDS

Krasochko P. P.¹, Yarygina E. I.², Yaromchik Y. P.¹, Kashko L. S.³, Kugelev I. M.³

¹ УО «Vitebsk Order» Badge of Honor «State Academy of Veterinary Medicine»

² FSBEIHE «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology. KI Scriabin»

³ FSBEIHE «Smolensk State Academy of Agriculture»

The purpose of research – Evaluation of antibody production in cows after vaccination against infectious bovine rhinotracheitis, depending on the serological status of animals in herds. Using both live and inactivated vaccines in the regular way on the farms, not conducting vaccination against IBR, leads to the formation of high titers of antiviral antibodies. In households where the vaccination of animals takes place against the IBR, tend to have a good immune response, as well as newborn calves protected from this type of infection. In households where the constantly vaccinated animals against IRT cattle after administration of vaccines noted the high level of antibody response, but greater efficiency is marked by a single application of the vaccine.

Keywords: *infectious bovine rhinotracheitis, bovine immune response, live and inactivated vaccines, enzyme immunoassay*

УДК: 619:616-07

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ КУРЧАТ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ РІЗНИХ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

Лизогуб Л. Ю.

Одеська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Одеса, Україна, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті наведено аналіз змін біохімічних показників сироватки крові курчат з 13 до 60 доби життя. Курчатам застосовували різні схеми антибактеріальної терапії, які включали використання одного і двох антибактеріальних препаратів, а також пробіотика «Болмол». Отримані дані про позитивний вплив пробіотика «Болмол» на показники білкових фракцій, у порівнянні з антибактеріальними препаратами на основі амоксициліна та тілозіна, а також енрофлосаціна.

Ключові слова: *антибактеріальні препарати, курчата, імунітет*

Відомо, що за зміною фракцій білків сироватки крові можна достовірно судити про реактивність організму. У зв'язку з цим, особливий інтерес викликають тенденції зміни білкових фракцій сироватки крові при застосуванні різних антибактеріальних препаратів [1]. Нині в ході антибактеріальної терапії досить часто виникає необхідність заміни одного препарату іншим, що спричинено зниженням чутливості. Разом з цим, існує проблема накопичення побічних ефектів, викликаних застосуванням антибактеріальних препаратів [2]. На даний момент для птахівництва зареєстровано 138 антибактеріальних препаратів вітчизняного та зарубіжного виробництва. На основі 15 діючих речовин для птахівництва випускається 110 препаратів. Найбільший відсоток належить препаратам, що містять наступні діючі речовини: енрофлосацін – 19 %, тілозин – 14,5 %, амоксицилін – 11 %, колістин – 10 %, доксициклін – 9 % [2]. Виходячи з цих даних, та даних про чутливість отриманих нами раніше [3], для досліджу були обрані найбільш популярні діючі речовини, до яких були чутливі культури. На думку ряду вчених антибактеріальні препарати мають опосередкований негативний вплив на імунітет. Так, відомий негативний вплив на напруженість неспецифічного імунітету птиці при застосуванні пеніциліну, біциліну-3, окситетрацикліну, хлортетрацикліну, тощо [4].