

Н.А.Ковалев, академик Академии аграрных наук Республики Беларусь,

доктор ветеринарных наук, профессор

П.А.Красочко, доктор ветеринарных наук

И.А.Красочко, кандидат ветеринарных наук

Т.В.Белявская, младший научный сотрудник

Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышеселеского

УДК 636.053:636:612.017

Состояние иммунитета при вакцинации телят бивалентной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи

Разработана бивалентная живая культуральная вирус-вакцина против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. При вакцинации отмечено ее стимулирующее действие на основные показатели клеточного и гуморального иммунитета у иммунизированных животных. Установлено отсутствие взаимной интерференции монокомпонентов, входящих в вакцину. Иммунизация телят активизирует биосинтез противовирусных антител, увеличивает количество Т- и В-лимфоцитов, концентрацию иммуноглобулинов М и G-классов, титр интерферона и лизоцима.

В последние годы респираторные инфекции молодняка крупного рогатого скота нашли широкое распространение в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь. В этиологии данных заболеваний играют роль вирусы, бактерии, хламидии, микоплазмы (1). Из вирус-возбудителей респираторных инфекций наиболее широко распространены вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи, парагрипп-3, респираторно-синцитиальный и др.

Особенностью вирусных респираторных инфекций является их двухэтапное течение. Так, на первом этапе вирусы-возбудители респираторных инфекций поражают чувствительные клетки органов дыхания, угнетают иммунную систему, нарушают обменные процессы организма заболевшего животного. На втором этапе на фоне воздействия вирусов активизируется условно-патогенная микрофлора, которая осложняет течение заболевания (1,9).

В комплексе лечебно-профилактических мероприятий при вирусных респираторных инфекциях специфическая профилактика занимает одно из ведущих мест. При этом вакцинация молодняка живыми вирус-вакцинами позволяет создать напряженный поствакцинальный иммунитет, а постоянная иммунизация воспроизводящего поголовья способствует выработке достаточного количества противовирусных антител, которые находятся как в крови, так и в молозиве. Особенностью течения инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи является преодоление плацентарного барьера. При этом в результате иммунизации стельных коров живы-

The cultural vaccine against infectious rhynotracheitis and viral diarrhea of cattle was constructed. During vaccination the stimulating effect on the main links of cell and humoral immunity was obtained. The interference of monocomponents of vaccine was absent. The immunisation of calves has activate the biosynthesis of antiviral antibodies, increase the amount of T-and B-lymphocytes, the concentration of M-and G-immunoglobulines, the titer of interferon and lysocime.

ми вакцинами происходит частичная внутриутробная иммунизация плодов, способствующая некоторому оздоровлению новорожденных телят. Кроме того, в результате вакцинации происходит вытеснение из стада крупного рогатого скота эпизоотических штаммов вакцинами и тем самым снижается степень инфицированности возбудителями инфекционных болезней (3,4).

С целью уточнения эпизоотической ситуации по вирусным респираторным инфекциям нами проведены исследования по изучению роли вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи в этиологии этих заболеваний в Республике Беларусь. При этом установлено, что моноинфекции встречаются значительно реже (до 15%), чем ассоциации этих возбудителей (75–80%).

Такое положение послужило основанием для конструирования бивалентной вирус-вакцины против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. Для оценки иммунологической активности разработанной вакцины изучен иммунный ответ телят после иммунизации.

Для опыта были взяты телята черно-пестрой породы 2–3-месячного возраста живой массой 60–70 кг, место опыта – колхоз “Рассвет” им. К.П.Орловского Кировского района Могилевской области. Для этого по принципу аналогов сформировали 4 группы по 7 голов в каждой.

Телят I-й опытной группы иммунизировали бивалентной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи в дозе 2 мл интратрахеально с интервалом 21 день при инфекционных титрах монокомпонентов по 5,5 лг ТЦД 50/мл.

Таблица 1. Титры антител в сыворотке крови телят, иммунизированных моно- и бивалентной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота в РНГА

Группы животных	Вакцины	Титр антител (\log_2) в дни введения				
		10 дней	21 день	30 дней	45 дней	60 дней
1	ИРТ+ВД	$2,5 \pm 0,28$	$3,8 \pm 0,20$	$4,1 \pm 2,5$	$6,6 \pm 0,24$	$7,6 \pm 0,28$
		$4,8 \pm 0,45$	$6,8 \pm 0,53$	$7,0 \pm 0,47$	$8,0 \pm 0,42$	$7,8 \pm 0,47$
2	ИРТ	$2,5 \pm 0,24$	$3,9 \pm 0,31$	$4,0 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,32$	$7,0 \pm 0,28$
3	ВД	$3,3 \pm 0,25$	$4,8 \pm 0,40$	$6,5 \pm 0,35$	$7,9 \pm 0,45$	$8,0 \pm 0,38$
4	контроль	0	0	0	0	0

Примечание: числитель – антитела к вирусу ИРТ; знаменатель – антитела к вирусу ВД.

Таблица 2. Динамика антител Ig M и Ig G-классов у телят, иммунизированных моно- и ассоциированной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота в ИФА (Е)

Группы животных	Вакцины	Антитела	Дни после иммунизации			
			до иммунизации	через 10 дней	через 21 день	через 45 дней
1	ИРТ+ВД	Ig M-класса	$1,68 \pm 0,07$	$2,00 \pm 0,06$	$2,11 \pm 0,08$	$2,19 \pm 0,05$
		Ig G-класса	$1,45 \pm 0,06$	$1,31 \pm 0,08$	$1,56 \pm 0,21$	$1,89 \pm 0,04$
2	ИРТ	Ig M-класса	$1,53 \pm 0,14$	$2,05 \pm 0,1$	$2,07 \pm 0,11$	$2,21 \pm 0,09$
		Ig G-класса	$1,37 \pm 0,32$	$1,28 \pm 0,04$	$1,63 \pm 0,27$	$1,77 \pm 0,08$
3	ВД	Ig M-класса	$1,54 \pm 0,11$	$2,09 \pm 0,17$	$2,32 \pm 0,06$	$2,14 \pm 0,09$
		Ig G-класса	$1,35 \pm 0,09$	$1,56 \pm 0,08$	$1,78 \pm 0,15$	$1,75 \pm 0,09$
4	контроль	Ig M-класса	$1,61 \pm 0,04$	$1,75 \pm 0,09$	$1,76 \pm 0,09$	$1,57 \pm 0,21$
		Ig G-класса	$1,54 \pm 0,04$	$1,56 \pm 0,06$	$1,62 \pm 0,04$	$1,59 \pm 0,11$

Телят II-й опытной группы иммунизировали моно-валентной вакциной против инфекционного ринотрахеита в дозе 2 мл интратрахеально с интервалом 21 день при инфекционном титре $5,5 \lg$ ТЦД 50/мл.

Телят III-й опытной группы иммунизировали моно-валентной вакциной против вирусной диареи в дозе 2 мл интратрахеально с интервалом 21 день при инфекционном титре $5,5 \lg$ ТЦД 50/мл.

Телята контрольной группы были интактны.

Для оценки состояния поствакцинального иммунитета у опытных и контрольных животных была взята кровь до иммунизации, через 10, 21, 30, 45 и 60 дней после иммунизации. В крови определяли титр антител в РНГА (7) и ИФА (8), содержание Т- и В-лимфоцитов по Д.К.Новикову и В.П.Новиковой (10), титр интерферона по Н.С.Мурашовой с соавт. (2), лизоцима по В.Г.Дорофейчуку (4).

Полученные результаты подвергали статистической обработке по Р.Б.Стрелкову (11).

Результаты исследований.

В таблице 1 представлены результаты изучения титров антител в сыворотке крови телят после иммунизации моно- и бивалентной вакцинами против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота.

Из представленных данных видно, что иммунизация телят вакцинами способствует биосинтезу проти-

вовирусных антител к двум вирусам. При этом не отмечается конкуренции антигенов вирусов при одновременном введении. Так, у телят, иммунизированных бивалентной вакциной, начиная с 10-го дня наблюдения титры противовирусных антител в РНГА повышались в 3,2 и более раза и к 45-му дню их титр достигал $8,0 \log_2$. Уровень антител у телят, иммунизированных моновакцинами, был практически одинаков с уровнем антител у телят, иммунизированных бивалентной вакциной.

В таблице 2 представлены результаты постановки ИФА при изучении антител IgM и Ig G-классов после иммунизации моно- и бивалентной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота.

Из представленных данных видно, что в первые дни после иммунизации начинается биосинтез антител, относящихся к иммуноглобулинам М-класса, после чего с 10-го дня начинают синтезироваться антитела Ig G-класса.

В таблице 3 представлены результаты изучения динамики Т- и В-лимфоцитов у телят, иммунизированных моно- и ассоциированной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота.

Как видно из представленных результатов, иммунизация животных способствует активизации Т- и В-лимфоцитов. Так, уже через 10 дней отмечено увеличение Т- и В-лимфоцитов у телят, иммунизирован-

Таблица 3. Динамика Т- и В-лимфоцитов у телят, иммунизированных моно- и ассоциированной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота

Группы животных	Вакцины	Лимфоциты	Дни после иммунизации			
			до иммунизации	через 10 дней	через 21 день	через 45 дней
1	ИРТ+ВД	Т-лимфоциты	24,0 ± 2,5	28,75 ± 4,2	36,75 ± 2,8	33,8 ± 2,8
		В-лимфоциты	16,4 ± 1,76	22,4 ± 3,1	22,3 ± 2,81	21,88 ± 2,7
2	ИРТ	Т-лимфоциты	24,5 ± 0,51	26,2 ± 1,2	24,75 ± 1,8	35,2 ± 2,7
		В-лимфоциты	16,2 ± 1,02	21,5 ± 2,04	22,4 ± 1,76	20,5 ± 1,8
3	ВД	Т-лимфоциты	20,1 ± 1,8	30,6 ± 1,26	36,2 ± 1,1	27,8 ± 1,72
		В-лимфоциты	16,4 ± 1,3	26,6 ± 0,86	22,4 ± 1,7	21,4 ± 0,64
4	контроль	Т-лимфоциты	17,6 ± 1,7	14,8 ± 0,86	18,8 ± 0,86	14,7 ± 1,1
		В-лимфоциты	23,5 ± 1,29	21,3 ± 1,7	22,5 ± 1,4	18,5 ± 0,89

Таблица 4. Концентрация лизоцима в сыворотке крови телят, иммунизированных моно- и бивалентной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота в РНГА

Группы животных	Вакцины	Концентрация лизоцима (мкг/мл)				
		до иммунизации	10 дней	21 день	30 дней	45 дней
1	ИРТ+ВД	5,5 ± 1,2	8,16 ± 2,4	7,25 ± 1,8	4,8 ± 2,08	6,4 ± 1,9
2	ИРТ	5,8 ± 0,83	7,1 ± 0,98	6,9 ± 1,29	5,7 ± 1,39	6,5 ± 1,59
3	ВД	5,6 ± 1,7	7,9 ± 1,7	7,5 ± 0,89	6,3 ± 1,12	6,7 ± 1,7
4	контроль	5,4 ± 0,8	5,4 ± 0,7	6,0 ± 0,9	5,6 ± 1,82	5,4 ± 1,12

Таблица 5. Титры интерферона в сыворотке крови телят, иммунизированных моно- и бивалентной вакцинами против ИРТ и ВД крупного рогатого скота в РНГА

Группы животных	Вакцины	Титр интерферона (%)				
		до иммунизации	10 дней	21 день	30 дней	45 дней
1	ИРТ+ВД	35,4 ± 2,8	45,7 ± 1,7	45,4 ± 1,9	42,4 ± 1,24	52,3 ± 2,81
2	ИРТ	29,1 ± 5,96	59,7 ± 5,6	52,6 ± 8,8	50,4 ± 9,5	43,3 ± 9,6
3	ВД	32,6 ± 8,37	60,9 ± 4,5	59,2 ± 6,2	55,3 ± 4,06	50,8 ± 3,52
4	контроль	32,5 ± 7,8	35,4 ± 5,4	41,3 ± 6,2	32,0 ± 6,07	32,4 ± 5,4

ных как моно-, так и бивалентной вакцинами. Возрастание количества Т- и В-лимфоцитов отмечалось до 21 дня, после чего произошло некоторое их снижение. У вакцинированных животных наиболее характерным являлось увеличение Т-лимфоцитов (в 2,0 раза выше, чем в контроле), В-лимфоцитов (в 1,18 раза).

В таблице 4 представлены результаты динамики лизоцима у телят, иммунизированных моно- и ассоциированной вакцинами.

Представленные данные показывают, что после иммунизации телят бивалентной и моновакцинами в сравнительном аспекте значительно повышается концентрация лизоцима в сыворотках крови телят. Особенно характерно его увеличение после вакцинации на 10-й день, после чего происходит постепенное его снижение в сыворотке крови.

В таблице 5 представлены результаты изучения динамики интерферона после иммунизации телят вышеуказанными вакцинами.

Данные по изучению интерферона свидетельствуют о повышении его биосинтеза в результате вакцинации. Характерно, что моновакцины обладают более высокой интерферогенной активностью по сравнению с бивалентной вакциной, хотя концентрация интерферона превышала исходный уровень на 10–20%.

Таким образом, иммунизация телят бивалентной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота способствует значительной активизации показателей клеточного и гуморального иммунитета. Это свидетельствует о том, что вакцинные штаммы, входящие в состав вакцины, не угнетают иммунный ответ и не обладают иммунодепрессивным действием.

Выводы:

1. Иммунизация телят бивалентной вакциной против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота стимулирует биосинтез противовирусных антител, активизирует клеточный и гуморальный иммунитет.

2. Бивалентная вакцина против инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота не обладает иммунодепрессивными свойствами.

3. Входящие в состав вакцины штаммы инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи не обладают взаимной интерференцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Е.В. Средства и способы пассивной иммунизации телят в хозяйствах по производству говядины // Проблемы ветеринарной иммунологии. – М.: Агрпромпиздат, 1985. – С.135–138.

2. А.С. 1082422 СССР, МКИ А 61 К 45/02. Способ определения активности интерферона в сыворотке и плазме крови / Н.С.Мурашова, В.В.Мартынова, Н.Т.Митрофанова (СССР). – № 3463336/28–13; Заявл. 05.07.84; Опубл. 30.03.84, Бюлл. №12.

3. Баева Е.В. Функции иммунной системы при стрессовых воздействиях в раннем постнатальном онтогенезе: Автореф. дисс. доктора биол. наук: 14.00.16 / НИИ эксп. медицины. – Ленинград, 1991. – 34 с.

4. Жидков С.А. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота / характеристика возбудителя, диагностика и специфическая профилак-

тика / Автореф. дисс. доктора вет. наук: 16.00.03 / ВИЭВ. – М.: 1994. – 44 с.

5. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка. – Мн.: Ураджай, 1993. – 288 с.

6. Козлюк А.С., Анисимова Л.А., Шройт И.Т. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях. – Кишинев: Штиинца, 1987. – 145 с.

7. Красочко П.А., Помирко Т.И. Рекомендации по диагностике вирусных респираторных инфекций крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) (рассмотрены и одобрены секцией ветеринарии НТС Госагропрома Молдавской ССР от 19.11.1987 г., протокол № 2). – Кишинев, 1988. – 8 с.

8. Красочко П.А., Федоров Ю.Н., Феоктистова Т.А. Методические рекомендации по использованию иммуноферментного анализа при выявлении антител I_g М-класса к вирусу диареи – болезни слизистых крупного рогатого скота. Рассмотрены, одобрены и утверждены на заседании секции иммунологии и биотехнологии ВАСХНИЛ 27 ноября 1991 – М., 1991. – 7с.

9. Красочко П.А. Моно и ассоциативные вирусные респираторные инфекции крупного рогатого скота (иммунологическая диагностика, профилактика и терапия: Автореф. дис. доктора вет. наук: 16.00.03 / БелНИИЭВ. – Минск, 1997. – 34 с

10. Новиков Д.К., Новикова В.Н. Клеточные методы иммунодиагностики. – Минск: Беларусь, 1979. – 224 с.

11. Стрелков Р.Б. Метод вычисления стандартной ошибки и доверительных интервалов средних арифметических величин с помощью таблиц. – Сухуми: Алашара, 1966. – 16 с.