

УДК 636:612.017.11/.12

ЛОМАКО Ю.В., канд. вет. наук, доцент, e-mail: lamakajuri@mail.ru

НОВИКОВА О.Н., канд. вет. наук, e-mail: oksana 68on@mail.ru

ЗУБОВСКАЯ И.В., канд.вет.наук

БЕЛЯНКО Д.Л., мл. науч.с.

ДАДАШКО С.В.

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

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, КЛЕБСИЕЛЛЕЗА, ПРОТЕОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ИММУННИТЕТ ТЕЛЯТ ДО ДВУХ МЕСЯЧНОГО ВОЗРАСТА

В статье приведены результаты по изучению влияния вакцины для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, протеоза крупного рогатого скота (КСКП) на показатели специфического иммунитета и фагоцитарную активность гранулоцитов крови телят до двух месячного возраста. В связи с высокими фоновыми колостральными антителами в сыворотке крови телят не удалось выявить сероконверсию к антигенам вакцины КСКП на разных сроках после иммунизации. В то же время вакцина стимулировала фагоцитарную активность гранулоцитов крови телят и повышала резистентность животных к условно патогенной микрофлоре, циркулирующей в хозяйстве.

***Ключевые слова.** Вакцина КСКП, специфический иммунитет, фагоцитарная активность гранулоцитов, телята.*

Введение. Желудочно-кишечные заболевания молодняка крупного рогатого скота являются одной из наиболее распространенных проблем инфекционной патологии животных во многих странах мира, в том числе и в Беларуси. Как правило, в большинстве случаев эти заболевания имеют сложную этиологическую структуру, развиваются на фоне выраженного иммунодефицита и проявляются в форме тяжелых патологических состояний [1].

Иммунная система телят молочного периода (с момента рождения до 28 дней) имеет возрастные особенности развития, защитные функции организма формируются пассивно в результате своевременного выпаивания высококачественного молозива. Качественный состав молозива зависит от содержания, кормления и системы вакцинации стельных коров. В состав молозива входят антитела, иммунные клетки (нейтрофилы, макрофаги, Т- и В- лимфоциты), белки системы комплемента, лактоферрин, интерферон и др. Преобладающим иммуноглобулином молозива является IgG [2]

Известно, что одним из наиболее эффективных методов профилактики инфекционных заболеваний является вакцинация стельных коров и телят. Принято считать, что эффективность вакцинации определяется количеством специфических иммуноглобулинов, которые появляются в крови животных после иммунизации. У телят неонатального периода с высокими фоновыми значениями колостральных антител определить сероконверсию после введения вакцины практически не представляется возможным [3]. Эффективность вакцинации телят на фоне колостральных антител зависит от многих условий таких, как состав вакцины, количество проведенных вакцинаций, возраст теленка, уровень материнских антител, среднее значение защитных антител, влияние вакцины на факторы неспецифической резистентности организма и др.

Вакцина інактивована емульгована для профілактики колибактеріоза, сальмонеллеза, клебсіеллеза і протеоза (КСКП) крупного рогатого скота містить в своєму складі інактивовані корпускулярні бактеріальні антигени адгезивних штамів *Escherichia coli* (A20, K88, F41, K99), штамми *Salmonella dublin* і *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, масляний ад'ювант Montanide ISA 206 (Seppic, Франція). Вакцина рекомендована для застосування стельним коровам, а також телятам різних вікових груп [4].

Цель работы. Изучить влияние вакцины КСКП на показатели специфического иммунитета и фагоцитарную активность гранулоцитов крови телят раннего периода развития.

Материалы и методы исследований

Для опыта использовали вакцину инактивированную эмульгованную для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протеоза крупного рогатого скота (КСКП) производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского».

Опыт проводили в животноводческом хозяйстве неблагополучном по инфекционным заболеваниям с частыми явлениями поражения желудочно-кишечного тракта у телят.

Для установления этиологической структуры бактериальных энтеритов телят было проведено 5 бактериологических экспертиз патологического материала от павших и вынужденно-убитых по причине бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят из животноводческого хозяйства в котором проводили опыт.

Телят 5-7 суточного возраста, полученных от коров иммунизированных вакциной КСКП за 30 дней до отела, разделили на три группы. Контрольную группу телят не вакцинировали (группа №1). Телятам 2-й группы вводили однократно внутримышечно в область шеи вакцину КСКП в объеме 1,0 мл/теленка. Телятам 3-й группы по аналогичной схеме вводили эмульсию ад'юванта Montanide ISA 206 с ЗФР в соотношении 1:1. В каждой группе было по 10 телят.

Перед вакцинацией, а также на 15-е, 30-е, 45-е сутки после вакцинации у телят в реакции агглютинации (РА) определяли количественное содержание в сыворотке крови специфических антител к антигенам вакцины. Для постановки реакции агглютинации (РА) использовали суточные культуры бактерий, которые смывали с МПА стерильным ЗФР и с помощью прибора (Mc Farland Densitometer, Biosan) готовили микробные взвеси с концентрацией микробных клеток 1×10^9 микробных тел/мл. Постановку РА проводили в иммунологических 96 луночных планшетах. Учет результатов реакции осуществляли визуально через 24 часа.

При изучении фагоцитарной активности гранулоцитов крови тест-микробом служила суточная культура условно-патогенного штамма *Staphylococcus epidermidis*. Определяли фагоцитарный показатель - % гранулоцитов, участвующих в фагоцитозе, фагоцитарное число – среднее арифметическое количество микробов в одном гранулоците. Для определения способности гранулоцитов крови дезинтегрировать микробные клетки изучали степень завершенности фагоцитарного процесса методом Бермана, Славской [5].

В течение всего периода наблюдения учитывали клиническое состояние телят с регистрацией случаев возникновения заболевания желудочно-кишечного тракта.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью критерия Стьюдента для независимых выборок.

Результаты исследований и их обсуждение.

При проведении бактериологических экспертиз патологического материала от павших и вынужденно-убитых по причине бактериальных желудочно-кишечных инфекций телят из опытного животноводческого хозяйства было выделено пять патогенных культур микроорганизмов: нетипируемая *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Chlamidia spp.*, *Streptococcus sanguinis*.

Влияние иммунизации вакциной КСКП на количество специфических антител в сыворотке крови телят

Как видно из данных, представленных в таблицах 1-3, у вакцинированных телят не выявлено статистически значимого повышения специфических антител. Высокое фоновое значение колостральных антител на всех сроках наблюдения не позволило выявить сероконверсию к антигенам, входящим в состав вакцины, в сыворотках крови иммунизированных телят.

Таблица 1

Изучение титров специфических антител в сыворотке крови телят к бактериальным штаммам вакцины КСКП ($M \pm m$)

Препарат	Титры антител, \log_2								
	Антиген								
	E. coli A20			E. coli F41			E. coli K99		
	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней
Контроль (интактные телята)	3,0 $\pm 0,4$	4,4 $\pm 0,5$	3,8 $\pm 0,4$	8,6 $\pm 0,8$	8,8 $\pm 1,4$	7,8 $\pm 1,4$	8,2 $\pm 1,1$	8,0 $\pm 1,4$	7,8 $\pm 0,8$
КСКП	3,2 $\pm 0,2$	4,25 $\pm 1,1$	3,6 $\pm 0,4$	9,0 ± 0	9,5 $\pm 0,4$	9,5 $\pm 0,4$	8,4 $\pm 0,3$	8,5 $\pm 0,3$	9,0 $\pm 0,8$
ISA-206	3,0 $\pm 0,1$	5,6 $\pm 0,8$	5,0 $\pm 0,8$	8,3 $\pm 1,3$	8,3 $\pm 0,8$	7,0 $\pm 0,8$	7,0 $\pm 0,8$	6,3 $\pm 0,8$	7,0 $\pm 0,8$

Примечание: Фоновые значения титров антител (\log_2) в сыворотке крови телят составляли: *E. coli* A20 – 7,1 \pm 0,4, *E. coli* F41 – 8,8 \pm 0,2, *E. coli* K99 – 8,4 \pm 0,4

Таблица 2

Изучение титров специфических антител в сыворотке крови телят к бактериальным штаммам вакцины КСКП ($M \pm m$)

Препарат	Титры антител, \log_2 к антигенам					
	S. dublin			S. typhimurium		
	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней
Контроль (интактные телята)	9,0 \pm 0,4	4,8 \pm 0,5	5,8 \pm 0,3	4,2 \pm 0,5	2,8 \pm 0,4	3,2 \pm 0,2
КСКП	8,8 \pm 0,2	6,5 \pm 0,8	6,3 \pm 0,2	3,2 \pm 0,2	2,5 \pm 0,4	3,0 \pm 0,4
ISA-206	9,0 \pm 0,5	5,3 \pm 0,4	5,3 \pm 1,3	5,0 \pm 1,3	2,3 \pm 0,4	3,0 \pm 0,7

Примечание: Фоновые значения титров антител (\log_2) в сыворотке крови телят составляли: *S. dublin* – 6,5 \pm 0,4, *S. typhimurium* – 4,0 \pm 0,2

Таблиця 3

**Изучение титров специфических антител в сыворотке
грови телят к бактериальным штаммам вакцины КСКП ($M \pm m$)**

Препарат	Титры антител, \log_2					
	Антиген					
	K. pneumonia			Pr. mirabilis		
	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней
Контроль (интактные телята)	4,4 \pm 0,4	5,2 \pm 0,2	5,0 \pm 0	4,0 \pm 0	4,7 \pm 0,2	4,6 \pm 0,2
КСКП	4,6 \pm 0,2	7,8 \pm 0,2	4,6 \pm 0,2	3,0 \pm 0	4,5 \pm 0,4	5,0 \pm 0
ISA-206	4,3 \pm 0,4	6,3 \pm 0,4	5,6 \pm 0,2	3,3 \pm 0,2	5,0 \pm 0,2	5,6 \pm 0,2

Примечание: Фоновые значения титров антител в сыворотке крови телят составляли: K. pneumonia – 5,0 \pm 0,4, Pr. mirabilis - 4,5 \pm 0,8

Влияние иммунизации вакциной КСКП на фагоцитарную активность гранулоцитов крови телят

В группах телят №2 и №3 отмечали увеличение фагоцитарного показателя на 30-е и 45-е сутки после иммунизации (таблица 4). Стимуляция завершенности фагоцитарного процесса в этих опытных группах отмечена на 15-е и 30-е сутки. При этом фагоцитарное число на всех сроках наблюдения находилось на уровне контрольных величин.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о выраженной фагоцитоз-стимулирующей активности вакцины КСКП. Как показывают результаты наших исследований фагоцитоз-стимулирующий эффект вакцины обусловлен адьювантом ISA-206, входящим в её состав.

В результате наблюдения за общим состоянием телят было отмечено, что телята 2-й и 3-й групп оставались клинически здоровыми на всех сроках наблюдения, в то время, как в группе не вакцинированных телят у 70% животных на разных сроках отмечали расстройства со стороны желудочно-кишечного тракта, которое проявлялось в виде диарейного синдрома со снижением массы тела.

Таблиця 4

Изучение фагоцитарной активности гранулоцитов крови телят ($M \pm m$)

Группы телят	Фагоцитарный показатель, %			Фагоцитарное число			Показатель завершенности фагоцитоза, %		
	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней	15 дней	30 дней	45 дней
Контрольные телята)	46,6 \pm 1,8	34,2 \pm 1,2	38,3 \pm 0,9	3,7 \pm 0,7	3,4 \pm 0,3	3,8 \pm 0,5	27,8 \pm 2,8	28,6 \pm 2,6	45,2 \pm 2,2
КСКП	47,2 \pm 3,2	58,2 \pm 2,2*	49,2 \pm 3,6*	3,6 \pm 0,5	3,2 \pm 0,9	4,2 \pm 0,8	45,2 \pm 2,9*	43,1 \pm 1,4*	46,9 \pm 2,7
ISA-206	46,4 \pm 1,2	58,6 \pm 0,8*	56,7 \pm 1,7*	3,6 \pm 0,3	3,7 \pm 0,8	3,7 \pm 0,7	48,9 \pm 2,1*	40,0 \pm 2,1*	43,5 \pm 1,9

Примечание: Показатели фагоцитоза у телят перед введением препаратов (возраст телят 5-7 дней) – Фагоцитарный показатель - 48,6 \pm 1,8; Фагоцитарное число - 3,0 \pm 0,7; Показатель завершенности фагоцитоза - 53,6 \pm 3,8.

*-достоверное различие с контролем при $p < 0,01$

1. Выводы и перспективы дальнейших исследований

Иммунизация телят в раннем неонатальном периоде (5-7-е сутки после рождения) имела положительный эффект. Стимуляция вакцинным препаратом фагоцитарной активности клеток моноцитарного ряда дала возможность повысить уровень защиты телят от широкого спектра бактериальных патогенов, циркулирующих в животноводческом хозяйстве. Практически все вакцинированные телята оставались клинически здоровыми, в то время как в группе не вакцинированных телят у 70% животных на разных сроках наблюдения отмечали расстройства со стороны желудочно-кишечного тракта, что сопровождалось снижением массы тела.

Таким образом, из результатов наших исследований следует вывод, что телята, полученные от коров, иммунизированных вакциной КСКП, имеют высокие титры колостральных антител. Иммунизация таких телят на ранних сроках неонатального периода активизирует неспецифическую резистентность животных и повышает их устойчивость к условно-патогенной бактериальной микрофлоре.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Windeyer M.C. Factors associated with morbidity, mortality and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. / M.C. Windeyer, Leslie K.E., Godden S.M. et. al. // Prev. Vet. Med.-2014.-Vol.113.-P. 231-240.
2. Stelwagen K., Carpenten E., Haigh B., et.al. Immune components of bovine colostrums and milk. // J. anim. Sci. 2009.-Vol. 87 (13).- P. 3-9.
3. Hassig V., Wetli U, Suter M, Lutz H. The influence of colostrum antibodies on the postvaccination humoral immune response in neonatal calves.//Schweiz Arch. Tierheilkd.-2012.-Vol.154(4).-P. 141-147
4. Опарина И.В., Ломако Ю.В. Профилактическая эффективность вакцины инактивированной против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протеоза крупного рогатого скота в производственных условиях. //Приложение к журналу Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. Минск 2011.-Ч.4.- С.112-116.
5. Берман В.М., Славская Е.М. Завершенный фагоцитоз сообщение 1 Новый методический принцип изучения завершенной фагоцитарной реакции //Ж. микробиологии – 1958.-№3.-С. 8-13.

ВПЛИВ ВАКЦИНИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ КОЛІБАКТЕРІОЗУ, САЛЬМОНЕЛЬОЗУ, КЛЕБСІЕЛЬОЗУ, ПРОТЕОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ НА ІМУНІТЕТ ТЕЛЯТ ДО ДВОХ МІСЯЧНОГО ВІКУ / Ломако Ю.В., Новикова О.Н., Зубовська І.В., Білянко Д.Л., Дадашко С. В.

У статті наведені результати по вивченню впливу вакцини для профілактики колибактеріозу, сальмонельозу, протеоза великої рогатої худоби (КСКП) на показники специфічного імунітету і фагоцитарну активність гранулоцитів крові телят до двох місячного віку. У зв'язку з високими фоновими колостральними антитілами в сироватці крові телят не вдалося виявити сероконверсії до антигенів вакцини КСКП на різних термінах після імунізації. У той же час вакцина стимулювала фагоцитарну активність гранулоцитів крові телят і підвищувала резистентність тварин до умовно патогенної мікрофлори, що циркулює в господарстві.

Ключові слова: Вакцина КСКП, специфічний імунітет, фагоцитарна активність гранулоцитів, телята.

INFLUENCE OF THE VACCINE FOR PREVENTIVE PROPHYLACTIC OF COLIBACILLOSIS, SALMONELLOSIS, KLEBSIELLOSIS AND PROTEOSIS IN BOVINE ON IMMUNITY OF THE CALVES UP TO TWO MONTHS OF AGE / LamakaYu.V., Novikova O.N., Zubovskaya I.V., Belianko D.L., Dadashko S.V.

Introduction. Gastroenteritis in neonatal calves are the wide spread acute infection pathology in many cattle farms through over the world. The important preventive measures include proper colostrum management, vaccination of pregnancy cows and neonatal calves. There are some problems to determine postimmunisation seroconversion in paired serum of neonatal calves because of the high level of colostrums antibodies. The effect of the vaccination in neonatal calves depends on many factors such as proper vaccine, revaccination program, level of maternal antibodies, age of calves, influence the vaccine on non-specific resistance and so on.

The goal of the work The influence of the vaccine for preventive prophylactic of colibacillosis, salmonellosis, klebsiellosis and proteosis in bovine (KSKP) on the specific immune response and phagocytosis in calves up to two month of age was studied.

Materials and methods. The level of antibodies in blood serum was determined in reaction of agglutination (RA). The phagocytosis experiments were performed with 24 h culture *S. epidermidis*. The phagocytic index – the percentage of granulocytes taking part in phagocytosis – the phagocytic number – the average number of microbe cells captured by one granulocyte – and completed phagocytosis- were estimated. The clinical status of calves was estimated too.

Results of the study and discussion. The results showed that vaccine KSKP displayed phagocytosis stimulatory properties and that these properties determined by the activity of Montanide ISA 206. The seroconversion in paired serum of immunization neonatal calves was not found. The clinical status of experimental calves was different. 70% calves not vaccinated with vaccine KSKP or Montanide ISA 206 had diarrhea and loss of weight.

Conclusions and prospects for further research. The facts reported in this article show that calves had high level of colostrum antibodies to vaccine KSKP antigens. Immunization of these calves in early neonatal period with vaccine KSKP resulted in enhancing resistance to nonpathogenic microorganism circulation in dairy farm.

Key words. vaccine KSKP, specific immunity, non-specific resistance, calves.

REFERENCES

1. Windeyer M.C., Leslie K.E., Godden S.M., Hodgins DC, Lissemore KD & LeBlanc SJ (2014) Factors associated with morbidity, mortality and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prev. Vet. Med.*, 113, 231-240 [in English].
2. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A & Wheeler TT (2009) Immune components of bovine colostrums and milk. *J. anim. Sci.*, Vol. 87 (13), 3-9 [in English].
3. Hassig V., Wetli U, Suter M & Lutz H. (2012) The influence of colostrum antibodies on the postvaccination humoral immune response in neonatal calves. *Schweiz Arch. Tierheilkd.*- Vol.154(4),141-147 [in English].
4. Oparina I.V. & Lamaka Yu. V. Profilakticheskaja jeffektivnost' vakciny inaktivirovannoj protiv kolibakterioza, sal'monelleza, klebsielleza i proteoza krupnogo rogatogo skota v proizvodstvennyh uslovijah. [Prophylactic efficacy of vaccine for preventive profilactic of colibacillosis, salmonellosis, klebsiellosis and proteosis in bovine in dairy farm]. *Prilozhenie k zhurnal'nyj Vesci Nacyjanal'naj akademii navuk Belarusi. Seryja agrarnykh navuk – Addition to journal News of National academy of science Republik of Belarus.Series of Agricultural sciences.* Minsk, 4, 112-116 [in Russian].
5. Berman V.M., Slavskaya E.M. (1958) Completed phagocytosis report 1. New methodical approach for studying completed phagocytosis [Zavershennyj fagocitoz soobshhenie 1 Novyj metodicheskij princip izuchenija zavershennoj fagocitarnej reakcii]. *Zh. mikrobiologii– J. microbiology*, 3, 8-13 [in Russian].