

УДК 619:615.371:616.98:579.842.11:636.22/ 28.0532

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ СХЕМ ПРИМЕНЕНИЯ СОРБИРОВАННОЙ И ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИН ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЭШЕРИХИОЗА И ДРУГИХ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ

Ю.В. Ломако, И.В. Зубовская, Л.А. Амосова

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышеселеского»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 16.07.2014 г.)

Аннотация. Качественные, подобранные с учетом эпизоотической ситуации вакцины и грамотные схемы их применения позволяют поддерживать стабильное благополучие по инфекционным заболеваниям молодняка крупного рогатого скота в хозяйстве. Вакцины различаются по своему влиянию на иммунный ответ. Зная механизм их действия, можно комбинировать применение вакцин с различными адъювантами. В статье описана новая схема применения отечественной ассоциированной вакцины против колибактериоза и протейной инфекции телят, позволяющая в короткие сроки погасить вспышку желудочно-кишечной инфекции среди новорожденных телят.

Summary. Qualitative and selected facing epizootic situations, vaccines and competent schemes of their application allow to maintain a stable well-being on infectious diseases of young cattle on the farm. Vaccines differ in their effect on the immune response. According to the mechanism of their action it is possible to combine vaccines with various adjuvants. The article describes the application of the new scheme of national associated vaccine against colibacillosis and proteus infection of calves, allowing to extinguish the outbreak of gastro-intestinal infection among newborn calves in short timeframes.

Введение. В связи с развитием вакцинологии, поставлена важная задача подбора новых адъювантов для ветеринарных вакцин, позволяющих повысить безвредность и снизить реактогенность биопрепаратов. Современная биотехнология получает эффективные специфические антигены, требующие особой презентации иммунной системе организма животного. Создание «депо» на месте введения препарата, обеспечение долговременного и кратковременного иммунного ответа – все это является задачей адъюванта.

Попробуем по порядку разобраться в современных адъювантах и вакцинах с их применением.

Вакцина – это биопрепарат, созданный для формирования специфического иммунитета. Большинство бактериальных вакцин состоят из двух основных компонентов: антигена и адъюванта.

Адьювант (лат. *adjuvans* — помогающий, поддерживающий) – это вещество, неспецифически стимулирующее иммуногенез. Адьюванты увеличивают эффективность вакцин, и каждый из них имеет свои особенности. Однако поскольку не существует универсальных адьювантов, их нужно применять, учитывая вид вакцинируемого животного, вид антигена, тип иммунного ответа, способ вакцинации и длительность иммунитета.

Существует два основных способа действия адьювантов: один из них направлен на изменение свойств антигена (изменение его структуры, молекулярного веса, полимерности, растворимости и других физико-химических параметров), другой – на стимуляцию функций иммунной системы организма.

Таким образом, механизмы адьювантного повышения иммуногенности антигена сводятся, в основном, к следующему:

- в ответ на введение адьюванта развивается воспалительная реакция;
- комплекс антигена с адьювантом повышает активность антигена;
- адьювант стимулирует фагоцитарную активность и плазмоцитарные реакции;
- адьювант защищает антиген от гидролиза тканевыми ферментами;
- адьювант снижает реактогенность антигена.

По своему происхождению адьюванты бывают минеральные, растительные, микробные, синтетические, препараты тимусного происхождения и др. Наиболее часто в ветеринарии для производства вакцин используют минеральные (гель гидроокиси алюминия, фосфат алюминия, фосфат кальция, хлористый кальций, алюминиево-калиевые квасцы) и масляные адьюванты. Соответственно и вакцины с их использованием делятся на сорбированные и эмульгированные.

В чем преимущество минеральных адьювантов? Минеральные адьюванты стимулируют в большей степени гуморальный иммунитет, воздействуя на вспомогательные клетки и лимфоциты Т-хелперы 2 (Th2). Иммуногенность сорбированных препаратов повышается в сотни раз, она возрастает при увеличении степени сорбции антигена, которая зависит от соотношения антигена и сорбента в процессе сорбции, наличия неспецифических балластных веществ белковой и небелковой природы, концентрации солей, рН, температуры и времени сорбции.

Сорбированные препараты обладают рядом недостатков, включая недостаточную стандартность по содержанию сухого остатка, недостаточную дисперсность, ускоренное расслоение при хранении, старение геля. Несмотря на усиление гуморального иммунного ответа, для поддержания длительного иммунитета сорбированные вакцины требуют нескольких повторных иммунизаций.

С развитием науки и технологий широкое распространение в ветеринарии и ветеринарной биотехнологии получили эмульгированные вакцины, создаваемые с использованием масляных адьювантов.

Эмульгированные вакцины конструируются по принципу «вода в масле», «масло в воде» или «вода в масле в воде». Масляные частицы оказывают адьювантное действие, прежде всего за счет «корпускулирования» антигена, создания дискретных частиц, содержащих антиген. Размеры таких частиц обеспечивают стойкость эмульсии и иммуногенность препарата: масляные частицы диаметром 0,5-10 микрон доступны для фагоцитоза, большие масляные частицы (50 микрон и более) являются лишь резервуаром антигена. Такие эмульсии снижают токсичность встроенных веществ, обладают хорошей биосовместимостью и биодеградируемостью, могут содержать несколько антигенов и даже дополнительные адьюванты.

Эмульгированные вакцины вызывают более сильный и длительный иммунный ответ, а реактогенность их зависит от вида масла (минеральное, неминеральное) и степени его очистки.

Например, ряд вакцин («Ротавек Корона» производства Intervet, вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протозоя крупного рогатого скота, вакцина «пневмобакт» инактивированная эмульгированная против пневмонии телят производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского») вызывают выработку устойчивого, длительного иммунитета, способного защитить теленка в течение года.

Для наглядного сравнения на рисунке представлены графики напряженности иммунного ответа в ответ на введение сорбированной и эмульгированной вакцин. Синий график показывает, что сорбированная вакцина индуцирует быструю выработку антител после вакцинации – уже на 7-е сутки титр антител увеличивается в 2 раза и достигает пика на 28-е сутки (после повторного введения). После однократного введения эмульгированной вакцины титр антител растет более медленно и более продолжительное время держится на высоком уровне (рисунок).

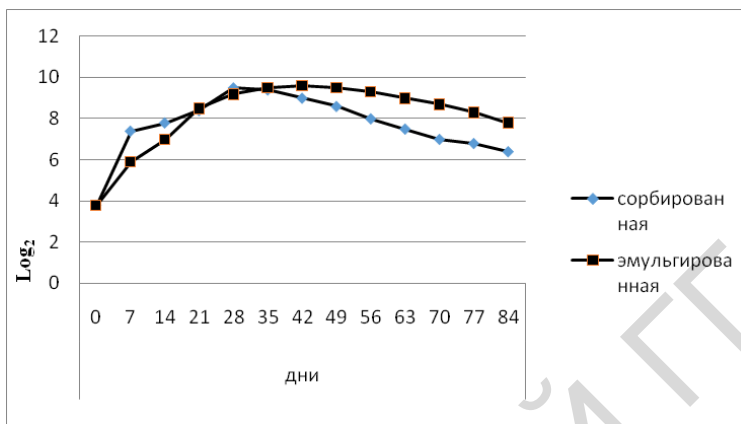


Рисунок – Развитие иммунного ответа на введение сорбированной и эмульгированной вакцины

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», являясь разработчиком и производителем многих биопрепаратов, имеет большой опыт работы с сорбированными и эмульгированными вакцинами. Тесная работа с животноводческими хозяйствами, оказание им консультационных и практических услуг, позволили обнаружить новые принципы применения некоторых вакцин для быстрого решения возникшей проблемы по сохранности новорожденных телят.

Традиционно применяемые в хозяйствах вакцины различных производителей стран Запада и России не обладают необходимой профилактической и противоэпизоотической эффективностью, и на фоне их применения в хозяйствах Республики Беларусь возникают серьезные проблемы. В связи с этим одним из ключевых подходов при решении проблемы, кроме обычных рекомендуемых противоэпизоотических мероприятий (разрыв эпизоотической цепи, дезинфекция, лечебные мероприятия и прочее), нами разработан принцип сочетания сорбированных и эмульгированных вакцин.

Цель работы – изучить эффективность и обоснованность новой схемы применения ассоциированной вакцины против колибактериоза и протейной инфекции телят для быстрой стабилизации эпизоотической ситуации по бактериальным желудочно-кишечным инфекциям телят в неблагополучном хозяйстве.

Материал и методика исследований. Испытания новой схемы применения вакцины ассоциированной против колибактериоза и про-

тейной инфекции телят производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» проводились в филиале «Белщина-Агро» ОАО «Белщина» Осиповичского района Могилевской области. До этого в данном хозяйстве применялась вакцина ОКЗ производства РФ.

При проведении бактериологической экспертизы патматериала от павших и вынужденно убитых телят, принадлежащих данному хозяйству, мы выделяли возбудителей колибактериоза *E. coli* A20 и протейной инфекции *Proteus mirabilis*. Ассоциированное течение инфекции обуславливало высокую заболеваемость новорожденных телят, летальность при этом составляла 40-50%.

Для проведения испытаний подобрали группу стельных коров и нетелей, которым до отела оставалось от 20 до 7 дней, т.е. животных, проиммунизированных вакциной ОКЗ согласно действующей инструкции, которых проиммунизировали вакциной ассоциированной против колибактериоза и протейной инфекции телят в объеме 4 см³ внутримышечно в область шеи однократно. У животных отобрали кровь до и через 7 дней после вакцинации и исследовали сыворотку крови на напряженность иммунитета в реакции агглютинации (РА). Кроме того, исследовали напряженность колострального иммунитета у телят, полученных от опытной группы коров и нетелей.

Результаты исследований и их обсуждение. Установлено, что возбудитель колибактериоза *E. coli* A20, выделенный в филиале «Белщина-Агро», является высоко вирулентным и широко распространенным в хозяйствах РБ, неблагополучных по колибактериозу. Однако, данный серотип, как и другой, не менее распространенный *E. coli* F41, отсутствует в российской вакцине ОКЗ. Поэтому данный биопрепарат не обеспечивает полноценной защиты животных.

В таблице 1 представлен уровень антител, на фоне которых проводилась иммунизация сорбированной вакциной против колибактериоза и протейной и инфекции телят и динамика титра антител через неделю после вакцинации.

Таблица 1 – Уровень титров антител у нетелей и коров до и после вакцинации, log₂

№ п.п.	Инв. №	Антигены							
		<i>E. coli</i> A20		<i>E. coli</i> F41		<i>E. coli</i> K99		<i>Pr. mir</i>	
		до	после	до	после	до	после	до	после
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
недели									
1	39344	5	8	9	11	6	9	6	9
2	39335	6	8	8	11	7	9	6	9
3	50768	6	7-8	10	12	5	8	6	8

4	53699	6	9	9	11	4	9	6	9
5	39511	5	9	9	11	6	9	6	9
6	39304	6	9	10	12	5	9	6	9
7	50683	4	8-9	9	11	6	9	6	9
8	40388	6	7-8	9	11	5	10	6	10
9	39488	6	7-8	9	10	5	8	6	8
10	50790	6	7	9	10	6	8	6	8
11	39332	6	8	10	12	5	10	6	10
12	39209	6	7-8	10	11	7	9	6	9
13	39232	6	9	10	10	5	9	7	9
14	39317	5	8	11	12	6	9	5	9
15	50685	5	8-9	10	11	6	10	6	10
16	39515	5	10	10	11	6	10	6	10
17	39305	5	6	10	10	5	8	6	8
18	50816	6	7-8	9	10	6	8	7	8
19	39319	5	8	10	11	6	9	6	9
среднее (M±m)		5,53±0,61	8,08±0,90***	9,53±0,70	10,95±0,71***	5,63±0,76	8,95±0,71***	6,05±0,40	8,95±0,71***
Коровы									
20	16377	7	8	10	11	5	8	7	10
21	04650	6	9	10	11	4	8	7	10
22	111	6	9	11	13	6	9	7	9
23	16279	8	8	10	12	6	9	8	9
24	03921	8	9	11	13	5	8	7	10
25	06357	5-6	10	9	11	6	9	7	9
26	16244	6	9	10	12	7	9	6	10
27	16958	6	9	9	11	6	9	8	9

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
28	16810	8	10	7	11	5	7	7	9
29	10309	6	8	11	13	5	9	7	10
30	567	7	8	10	11	6	8	8	9
31	40205	5	8-9	9	11	6	9	7	8
32	2177	4-5	8	7	11	6	8	0	9
33	16415	6	8-9	9	11	6	8	6	9
среднее (M±m)		6,36±1,10	8,71±0,70*	9,50±1,29	11,57±0,85*	5,64±0,74	8,43±0,65*	6,57±1,99	9,29±0,61*

Примечание: P < 0,001*

Как видно из таблицы 1, у коров и нетелей перед вакцинацией уровень антител к различным адгезивным антигенам кишечной палочки и протею был на уровне от $5,53 \pm 0,61$ до $9,53 \pm 0,70 \log_2$ в зависимости от антигена. Через неделю после вакцинации он достоверно возрос до $8,08 \pm 0,90$ - $11,57 \pm 0,85 \log_2$, т.е. на $2,07$ - $3,32 \log_2$. Таким образом, сорбированная вакцина индуцировала выработку высокого уровня антител через неделю после вакцинации.

В таблице 2 показан уровень колострального иммунитета у телят, полученных от вакцинированных коров.

Таблица 2 – Уровень колострального иммунитета у телят, полученных от вакцинированных коров и нетелей \log_2

№ п.п.	Инв. №	Антигена			
		E. coli A20	E. coli F41	E. coli K99	Pr. mir.
Телята от нетелей 10-14 дней					
1	2788	10	10	7	5
2	53744	8	8-9	7-8	5
3	3710	8-9	10	8	6
4	53708	9	10	9	7
5	53714	8-9	10	8	5
6	53707	6	7	7	5
среднее (M±m)		8,33±1,33	9,25±1,25	7,75±0,76	5,5±0,84
Телята от коров 10-14 дней					
7	2784	9	9	7	4
8	2785	9	9	7	4
9	2786	8	10	8	4
10	53743	8	9-10	7	4
11	53742	8	9-10	8	3
среднее (M±m)		8,4±0,55	9,4±0,42	7,4±0,55	3,8±0,45

Полученные с молозивом антитела сохранялись у телят 10-14-дневного возраста на уровне $3,8 \pm 0,45$ - $9,4 \pm 0,42 \log_2$. При этом нужно отметить снижение заболеваемости желудочно-кишечными болезнями телят, полученных от опытных матерей, на 35-40% и повышение сохранности до уровня 98-100%.

Заключение. Для стабилизации эпизоотической ситуации в хозяйстве, снижения заболеваемости и повышения сохранности молодняка, кроме общепринятых противоэпизоотических мероприятий, необходимо применять вакцины, включающие серотипы возбудителей, которые циркулируют в данном хозяйстве. Таковыми являются биопрепараты, разработанные и производимые в РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского", которые по своему антигенному составу максимально рекомендованы для применения в хозяйствах РБ.

Применение сорбированного биопрепарата при вспышке колибактериоза телят в хозяйстве стельным коровам за 7 дней до отела позволяет погасить вспышку заболевания среди вновь родившихся телят. Такая вакцинация за неделю до отела возможна лишь как исключение при первичном обращении хозяйства.

При отсутствии острой ситуации в неблагополучных фермах для создания колострального иммунитета сухостойные коровы и нетели за 45-30 дней до отела иммунизируются эмульгированной вакциной для

профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейоза крупного рогатого скота (КСКП).

Таким образом, комбинирование сорбированной и эмульгированной вакцины позволяет минимизировать ущерб от падежа молодняка и быстро стабилизировать эпизоотическую ситуацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасенко, В.И. Меры борьбы и профилактики при ассоциативных инфекциях животных / В.И. Афанасенко, А.П. Красиков // Актуальные проблемы инфекционных, паразитарных и незаразных болезней домашних животных и меры борьбы с ними: сб. науч. тр. – Омск, 1998. – 24-26 с.
2. Зубовская, И. Особенности применения вакцин с различными адьювантами / И. Зубовская, Ю. Ломако, Л. Амосова // Ветеринарное дело. – 2014. – № 6. – 38-40 с.
3. Карпухин, Г.И. Химические вакцины для профилактики кишечных инфекций / Г.И. Карпухин, Н.И. Шапиро, Р.А. Андриевская. – Л.: Медицина, 1979. – 192 с.
4. Медуницын, Н.В. Вакцинология / Н.В. Медуницын. – М.: Трилада-Х, 1999. – 96 с.
5. Основы инфекционной иммунологии / В.В. Макаров [и др.]. – Владимир; Москва: Фолиант, 2000. – 176 с.
6. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у кроликов при введении антигена кишечной палочки К-88, включенного в липосомы / П.И. Уласович [и др.] // Актуальные проблемы сельскохозяйственных животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 5-6 октября 2000 г. / Бел НИИ экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. – Минск, 2000. – 340-342 с.
7. Шутов, А.Э. Адьювантные свойства некоторых биостимуляторов при вакцинопрофилактике вирусного трансмиссивного гастроэнтерита (коронавирусной инфекции) свиней: автореф. дисс. канд. вет. наук: 16.00.03; 16.00.02 / А.Э. Шутов; Санкт-Петербург. акад. вет. Медицины. – СПб., 1996. – 16 с.
8. Aucouturier, J. Adjuvants designed for veterinary and human vaccines / J. Aucouturier, L. Dupuis, V. Ganne // Vaccine. – 2001. – №19. – 2666-2672 p.
9. Harold, F. Adjuvants and antibody production: dispelling the myths associated with Freund's complete and other adjuvants / F. Harold, Jr. Stills // ILAR Journal. – 2005. – Vol. 46, №3. – 280-293 p.