ИММУНИТЕТ И БИОТЕХНОЛОГИИ

УДК 619:619.98: 636.22/.28.053.2: 616-0973

**В.В. Лисицын, А.В. Мищенко, А.В. Кононов, С.В. Левченко, В.В. Думова,
Т.Б. Никешина, В.А. Мищенко, Д.К. Павлов, О.В. Кухаркина, Ю.А. Костыркин**
**ПРОБЛЕМА КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У
НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ**

Введение

У крупного рогатого скота плацента защищает плод от внешних воздействий, поэтому во время стельности не отмечается перехода иммуноглобулинов от матери плоду.

При рождении у телят отмечается физиологический иммунодефицит, вызванный отсутствием в крови иммуноглобулинов. Молозиво является единственным источником антител и клеточных факторов иммунитета, в т. ч. Т- и В-лимфоцитов, факторов переноса.

С помощью лимфоцитов молозива осуществляется адаптивный перенос клеточного иммунитета от коровы теленку. В первые 24 – 36 часов жизни новорожденного теленка иммуноглобулины молозива активно всасываются путем пиноцитоза через слизистую оболочку кишечника. Этому способствуют высокие абсорбционные свойства слизистой кишечника новорожденного в первые сутки жизни, а также неактивное состояние железистого аппарата желудка и кишечника, наличие ингибиторов ферментов в молозиве. Со временем абсорбционная способность кишечника уменьшается. Иммуноглобулины молозива переходят из кишечника в лимфоток неизменными с временной секрецией IgG – после 27, IgM – после 16, IgA – после 22 часов от рождения. Уровень колостральных антител зависит от времени приема, количества и качества поступившего новорожденным телятам молозива. В первые часы после рождения, при своевременной выпойке молозива, у телят отмечается очень высокий уровень колостральных антител.

С приемом молозива теленок абсорбирует 25% материнских иммуноглобулинов в неизменной форме, после чего их концентрация в сыворотке крови новорож-

денного резко возрастает. Чем раньше новорожденный теленок получит первое молозиво, тем более высокий уровень иммуноглобулинов поступит в кровь. На содержание иммуноглобулинов в молозиве отрицательное влияние оказывает ряд факторов: запоздалое доение и сильное переполнение вымени. У 10% коров в молозиве отмечается пониженная концентрация гамма-глобулинов. Если корова до отела начинает лактировать или молозиво вытекает из сосков вследствие слабости сфинктеров, то уровень иммуноглобулинов в молозиве будет значительно ниже.

Около 10% телят не абсорбируют иммуноглобулины, если первую порцию молозива они получили значительно позже рождения [6].

Время года, стресс, присутствие матери, эндокринный статус, живая масса при рождении, наличие ингибиторов в молозиве непосредственно коррелируют с абсорбцией иммуноглобулинов у телят [5, 6].

Недостаточное количество принятого молозива или несвоевременная выпойка приводят к возникновению вторичных иммунодефицитов, что способствует возникновению инфекционных болезней органов дыхания и пищеварения [6].

Ряд исследователей показал, что концентрация иммуноглобулинов в молозиве повышается с увеличением числа лактаций.

Многие специалисты, занимающиеся изучением болезней новорожденных телят, считают, что кормлением телят молозивом от коров-матерей, ранее иммунизированных инактивированной вакциной, можно предотвратить появление диарей новорожденных телят [2, 3, 4, 7]. В результате многочисленных исследований было установлено, что наиболее оптимальные результаты получаются при двукратной

вакцинации за 60–45 и 25–10 дней до отела [4, 7].

В хозяйствах, неблагополучных по парагриппу – 3 и инфекционному ринотрахеиту, коров иммунизируют два раза в год соответствующей вакциной. В зонах с высоким риском заноса ящура проводится двукратная вакцинация коров противоящурной вакциной. Для профилактики ротавирусной и коронавирусной диарей новорожденных телят двукратно иммунизируют соответствующими вакцинами глубокостельных коров за 60–45 и 15–10 дней до отела [7].

В данном сообщении приведены результаты изучения уровня вирусспецифических антител в сыворотках крови коров, их молозиве и сыворотках крови телят, полученных от этих коров.

Материалы и методы

Определение уровня антител к коронавирусу КРС в сыворотках крови коров и телят и в молозиве проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).

Антитела к ротавирусу, вирусной диарее и вирусу ящура выявляли иммуноферментным методом (ИФА).

Уровень антител к вирусу инфекционного ринотрахеита определяли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты исследований сывороток крови КРС из хозяйства, неблагополучного по коронарусной диарее. Из данных табл. 1 следует, что антитела к коронавирусу выявляли в 80% проб сывороток крови. Последующее увеличение количества сывороток, содержащих антитела к коронавирусу, можно объяснить циркуляцией возбудителя в стаде.

Показатели, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что сыворотки крови 37,3–68,7% новорожденных телят не содержат колостральных вирусспецифических антител. Все это указывает на необходимость вакцинации глубокостельных коров против циркулирующих в хозяйстве возбудителей.

В следующей серии опытов было проведено изучение уровня поствакцинальных вирусспецифических антител в сыворотках крови и молозиве коров и сыворотках крови новорожденных телят, полученных от вакцинированных коров.

Результаты, приведенные в табл. 3, свидетельствуют о том, что сыворотки крови 20–50% новорожденных телят, полученных от вакцинированных коров, не содержат колостральных антител.

В тоже время вирусспецифические антитела были выявлены в пробах крови и молозива от всех обследованных коров. Было отмечено существенное снижение накопления противоящурных антител в молозиве коров через 4–5 месяцев после вакцинации.

Ранее нами было установлено, что среди телят, родившихся ночью, заболеваемость и гибель значительно превышают аналогичные показатели у телят, родившихся днем [7].

В табл. 4 представлены результаты изучения уровней антител в сыворотках крови и молозива КРС, вакцинированного против рота-, коронарусной инфекции и ящура в зависимости от времени выпойки молозива.

Вирусспецифические антитела к рота- и коронавирусам выявлены в 90% сывороток телят, родившихся днем, и в 55–60% %

Таблица 1

Уровень антител к коронавирусу в сыворотках крови КРС

№№ п/п	Возраст животных	Кол-во проб	В т. ч. положительных проб:		
			кол-во	%	средний уровень антител в РТГА (log ₂)
1	Телята до выпойки молозива	15	0	0	0
2	Телята (3–9 дней)	15	12	80	7,1±0,20
3	Телята (10–30 дней)	15	13	87	8,3±0,30
4	Телята (31–50 дней)	15	15	100	6,5±0,70
5	Молодняк (51–90 дней)	15	15	100	8,06±0,03
6	Молодняк (91–180 дней)	15	15	100	7,6±0,44
7	Молодняк (181–360 дней)	15	15	100	6,8±0,68
8	Молодняк (старше 12 месяцев)	15	9	60	6,2±0,66
9	Коровы	15	10	67	5,5±0,80
10	Всего	135	104	77	7,0±0,45

Результаты исследований сывороток крови телят на наличие колостральных вирусспецифических антител

№№ п/п	Возбудитель	Показатели	Всего проб	В т. ч. антителосодержащих:		
				возраст телят (дни)		
				1-10	11-20	21-30
1	Коронавирус	всего сывороток	59	13	30	16
		в т. ч. антителосодержащих	30	10	16	4
		%	51,0	76,9	53,3	25,0
		средний уровень антител ($\log_2$)	5,9±0,39	6,3±0,36	6,4±0,47	5,0±0,32
2	Вирус ПГ-3	всего сывороток	59	13	30	16
		в т. ч. антителосодержащих	22	8	10	4
		%	37,3	61,5	33,3	25,0
		средний уровень антител ($\log_2$)	5,9±0,35	6,9±0,47	5,8±0,37	5,0±0,22
3	Вирус ИРТ	всего сывороток	58	13	29	16
		в т. ч. антителосодержащих	34	10	16	8
		%	58,7	76,9	55,2	50,0
		средний уровень антител ($\log_2$)	6,1±0,42	6,9±0,63	5,8±0,29	5,6±0,32
4	Вирус диареи	всего сывороток	30	10	10	10
		в т. ч. антителосодержащих	18	8	5	5
		%	60	80	50	50

Таблица 3

Уровень вирусспецифических антител в сыворотках крови и молозиве вакцинированных коров и сыворотках крови их телят

Состав вакцины	Время после вакцинации	Антитела к вирусу	Сыворотки	Всего сывороток	В т. ч. положительных:	
					%	средний уровень антител, $\log_2$
Ротавирус и коронавирус	10–20 дней	коронавирус	крови коров	30	100	8,4±0,78
			молозива	30	100	12,2±0,68
			крови телят	30	80	7,7±0,69
		ротавирус	крови коров	30	100	8,8±0,76
			молозива	30	100	11,2±0,43
			крови телят	30	80	7,8±0,42
ПГ-3 и ИРТ	2 месяца	ПГ - 3	крови коров	25	100	8,5±0,49
			молозива	25	100	11,0±0,86
			крови телят	25	76	8,2±0,74
		ИРТ	крови коров	25	100	6,5±0,45
			молозива	25	100	9,6±0,56
			крови телят	25	76	7,0±,65
Ящур А, О, Азия-1	4 месяца	Ящур О ₁	крови коров	20	100	5,8±0,54
			молозива	20	100	6,9±0,85
			крови телят	20	60	5,6±0,43
Ящур А, О, Азия-1	5 месяца	Ящур О ₁	крови коров	20	90	4,96±0,60
			молозива	20	90	7,63±0,74
			крови телят	20	50	4,54±0,78

Уровень антител в сыворотках крови и молозива КРС, вакцинированного против рота- и коронавирусной инфекций и ящура

Время отела	Сыворотки	Кол-во сывороток	В т. ч. содержащих антитела к:					
			ротавирусу		коронавирусу		вирусу ящура O ₁	
			%	средний уровень антител, log ₂	%	средний уровень антител, log ₂	%	средний уровень антител, log ₂
День	крови коров	20	100	8,8±0,60	100	8,6±0,80	100	6,5±0,70
	молозива	20	100	11,4±0,32	100	12,1±0,60	100	9,1±0,86
	крови телят	20	90	7,7±0,50	90	7,8±0,30	90	6,1±0,94
Ночь	крови коров	20	100	8,7±0,50	100	8,8±0,50	100	6,1±0,88
	молозива	20	100	10,8±0,70	100	11,8±0,60	100	8,9±1,12
	крови телят	20	60	6,5±0,70	55	6,6±0,50	55	5,9±0,92

сывороток у «ночных» телят. По-видимому, это объясняется несвоевременной выпойкой молозива телятам, родившимся ночью.

Телята, рожденные днем, существенно меньше были подвержены заболеваниям с диарейным синдромом. Эти результаты подтверждают наблюдения многих исследователей.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в хозяйствах, где отмечена циркуляция коронавируса, возбудителей парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи вирусспецифические постинфекционные колостральные антитела выявляются у 25,0–80,0% новорожденных телят.

При исследовании сывороток крови новорожденных телят от вакцинированных коров колостральные антитела выявлены только в 60 – 80% проб.

Отмечена зависимость между количеством антител, содержащихся в сыворотках, и временем последней вакцинации.

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты исследований уровня вирусспецифических антител в сыворотках крови глубокостельных коров, молозиве и сыворотке крови телят, полученных от данных коров, из хозяйств, где отмечена циркуляция коронавируса, возбудителей инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, и хозяйств, где проводилась активная специфическая профилактика против рота- и коронавирусной инфекций, инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 и ящура типов А, О, Азия-1.

ABSTRACT

Results of testing blood sera, colostrum of down-calving cows and blood sera of their calves for virus-specific antibody levels are presented. The samples were obtained from the farms where coronavirus and infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3, viral diarrhea agents had been circulating and active specific prophylaxis against rotaviral and coronaviral infections, infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3 and FMD type A, O, Asia-1 was carried out.

Литература

1. Кухаркина, О.В. Получение и изучение свойств препаратов фактора переноса против некоторых вирусных и бактериальных инфекций животных: дис. ... канд. биол. наук / Кухаркина Ольга Венедиктовна. Владимир, 2003. 140 с.
2. Міськевич, С. Профілактична ефективність асоційованої інактивованої вакцини проти змішаної рота-, коронавірусної інфекції великої рогатої худоби / С. Міськевич, В. Скибіцький // Вет. мед. України. 2000. № 10. С. 18.
3. Гаффаров, Х. З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят / Х. З. Гаффаров, А. В. Иванов, Е. А. Непоклонов, А. З. Равилов. Казань: Фэн, 2002. 590 с.
4. Скибіцький, В.Г. Ротавірусна інфекція великої худоби (ротавірусний ентерит телят) / В.Г. Скибіцький

- кий. - Киев: Укр ИНТЕІ, 1993. - 208 с.
5. Федоров, Ю.Н. Иммунобиологические основы и принципы профилактики болезней новорожденных телят / Ю. Н. Федоров // Ветинформ. - 2002. - № 1. - С. 16-17.
6. Федоров, Ю.Н. Иммунопрофилактика болезней новорожденных телят / Ю. Н. Федоров // Ветеринария. - 1996. - № 11. - С. 3-6.
7. Эффективность вакцинопрофилактики вирусных диарей новорожденных телят рота- и коронавирусной этиологии/ В. А. Мищенко, О. И. Гетманский, Т. Б. Никешина [и др.] // Тр. Федерального центра охраны здоровья ж-ных. - Владимир, 2005. - Т.3. - С. 184-193.

УДК 619:616.98:578:579:636.5:573.6.086.83:57.083.3

Н.С. Мудрак, В.В. Дрыгин

СОЗДАНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ В ПТИЦЕВОДСТВЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ПРОГРАММЫ ДЛЯ УЧЕТА, ОБРАБОТКИ И ХРАНЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Введение

Эпизоотическое благополучие по большинству инфекционных болезней млекопитающих и птиц во многом определяется своевременной диагностикой и специфической профилактикой. В связи с развитием промышленного птицеводства, возникновением новых инфекционных заболеваний птиц, против которых проводят профилактические вакцинации, требуется разработка чувствительных, высокоспецифичных и поддающихся автоматизации методов обнаружения возбудителей заболеваний и оценки иммунного статуса птиц.

В течение последнего десятилетия в промышленном птицеводстве были предприняты успешные попытки модернизации серологической диагностики с применением иммуноферментного анализа, в полной мере отвечающего современным требованиям при создании диагностических систем для конкретного возбудителя [10].

Первоначально были разработаны тест-системы на основе непрямого варианта ИФА для выявления антител в сыворотках крови кур к наиболее значимым возбудителям заболеваний птиц методом последовательных разведений сывороток. Однако их масштабное применение оказалось более трудоемким и дорогостоящим по сравнению с традиционными методами. В попытке увеличить количество тестируемых проб и уменьшить расход реактивов и трудозатраты в дальнейшем провели оценку различных способов для прогнозирования в ИФА титров антител при исследовании проб сывороток в одном разведении.

Рядом авторов были предложены различные способы преобразования значений абсорбции, измеренной в отдельном разведении сыворотки, в числовое значение титра антител [9, 10, 11]. Кроме того, с применением соответствующих устройств и измерительного оборудования была разработана технология, позволяющая определять в одной реакции уровень антител в большом количестве проб сывороток одновременно против нескольких антигенов. Это, в свою очередь, привело к созданию и внедрению в ветеринарную практику специализированных компьютерных программ не только для перевода оптической плотности в числовое значение точного титра, но и для автоматической обработки, хранения и создания баз данных [11].

Крупнейшие фирмы — производители иммуноферментных наборов для диагностики болезней птиц (IDEXX (США), KPL (США), Guildhay Ltd (Великобритания), Biochek (Голландия)) при постановке реакции в одном разведении для расчета титра антител в сыворотке крови выбрали линейную зависимость $Ig T$ от величины $Ig S/P$ (отношение оптической плотности испытуемой пробы к оптической плотности положительного контроля), имеющую вид: $Ig T = A + B \cdot Ig S/P$. Для своих тест-систем каждая из этих фирм создала программное обеспечение с учетом их особенностей.

Задачей наших исследований было разработать отечественные тест-системы на основе непрямого варианта ИФА для определения антител к семи наиболее значимым инфекционным заболеваниям кур