

*П.А.КРАСОЧКО, доктор вет. наук, профессор;*

*И.П.ИВАНОВА, младший научный сотрудник;*

*А.П.ЛЫСЕНКО, доктор вет. наук;*

*Т.Н.АГЕЕВА, канд.вет.наук, Белорусский НИИЭВ им. С.Н.Вышелесского*

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛОКА КОРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА

Респираторные болезни крупного рогатого скота широко распространены в животноводческих хозяйствах страны. Одним из основных факторов, способствующим возникновению и развитию этих болезней, является снижение общей резистентности организма в результате нарушения технологии кормления и содержания молодняка. На этом фоне в возникновении респираторных болезней у телят существенную роль играют бактериальные и вирусные агенты. В эти-

ологической структуре респираторных инфекций наиболее существенное значение имеют вирусы — возбудители инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи (ВД), парагриппа-3 (ПГ-3).

Проведение специфической профилактики вирусных респираторных инфекций позволяет резко снизить инфицированность животных и, соответственно, заболеваемость телят и коров. Иммунизация взрослых ведет к созданию

# ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА БЕЛАРУСИ

высокого уровня антител в крови, молозиве или молоке. Определение титра антител к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 имеет важное значение для оценки напряженности поствакцинального иммунитета у коров. Общепринятым в проведении диагностических исследований у животных является выявление противовирусных антител в крови. Однако взятие крови у вакцинированных телят или коров приводит к излишнему стрессированию, снижению продуктивности в течение 7—10 дней на 15—20%. В этой связи является актуальным вопрос использования молока с целью выявления в нем противовирусных поствакцинальных антител.

Целью настоящего исследования послужило изучение динамики антител в молоке от вакцинированных коров против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и парагриппа-3.

Объектом исследования служили 30 коров, которых разделили на 5 групп: 4 опытных и 1 контрольная. Коров опытной группы № 1 иммунизировали живой культуральной вирус-вакциной против ИРТ, животных группы № 2 — живой культуральной вирус-вакциной против вирусной диареи, коров группы № 3 — живой культуральной вирус-вакциной против парагриппа-3, коров группы № 4 — экспериментальным образцом трехвалентной вакцины против ИРТ, ВД и ПГ-3, коровы группы № 5 — контроль. Вакцины вводили двукратно внутримышечно с интервалом в 21 день. Для исследования у коров брали молоко до иммунизации, через 14, 28 и 42 дня. Из молока получали сыворотку путем добавления пепсина и центрифугирования 3000 об/мин в течение 15 минут. Противовирусные антитела выявляли с помощью иммуноферментного анализа.

В качестве антигенов для иммобилизации полистироловых панелей были использованы культуральные вакцинные штаммы вирусов ИРТ, ВД, ПГ-3. Их предварительно концентрировали с помощью сульфата аммония и очищали хроматографией на ультрагеле от компонентов питательной среды. ИФА ставили на полистироловых панелях фирмы «Sarsted» (США). На них иммобилизовали очищенные антигены вирусов ИРТ, ВД и ПГ-3. Панели инкубировали 24 часа при 4°C, несвязавшийся с твердой фазой антиген отмывали буферным раствором с 0,05% твина-80. Лунки рядов блокировали раствором инертного белка (1%-й раствор альбумина на изотоническом растворе натрия хлорида). После 3-кратного отмывания буферным раствором в лунки вносили исследуемые неразведенные сыворотки молока, положительную и отрицательную сыворотки крови в разведении 1:100. После 2 часов инкубации при 37°C и пятикратного отмывания для выявления комплекса антиген-антитело в лунки вносили конъюгат пероксидазы хрена с антителами к

бычим иммуноглобулинам. Выявление количества связанных конъюгатов осуществляли с помощью субстратной смеси, состоящей из перекиси водорода с 5-аминосалициловой кислотой. Реакцию останавливали 10%-м раствором серной или уксусной кислоты. Учет реакции проводили на вертикальном спектрофотометре производства Витебского телезавода «АИФ-Ц-01С». Реакцию оценивали по превышению показателя оптической плотности в лунках с исследуемой сывороткой по отношению к этому показателю заранее отрицательной сыворотки (показатель  $\Delta E$ ).

В табл. 1 представлены результаты изучения динамики поствакцинальных антител к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 крупного рогатого скота в молоке от иммунизированных коров.

В результате проведенных исследований установлено, что до иммунизации у всех животных (как опытных, так и контрольных) в молоке присутствовали антитела к вирусам — возбудителям респираторных инфекций — ИРТ, ВД и ПГ-3. При введении коровам моновакцины против ИРТ к 28-мудню отмечается увеличение уровня антител (показатель  $\Delta E$  возрос с 2,0 до 2,5). После введения коровам моновакцины против ВД через 14 дней также отмечается некоторое увеличение уровня антител (показатель  $\Delta E$  возрос с 2,0 до 2,2), а к 42-му дню — до 2,4. После иммунизации животных 3-валентной вакциной против ИРТ, ВД и ПГ-3 к 14-му дню уровень антител несколько снизился, но затем отмечено его возрастание. Снижение титра антител у вакцинированных животных обусловлено его высоким исходным титром и последующей их нейтрализацией. Но в более поздние сроки уровень антител повышается в связи с биосинтезом поствакцинальных антител. У неиммунизированных коров существенного увеличения титров антител не установлено — их уровень не менялся практически на протяжении всего периода наблюдения.

## Выводы

1. Иммунизация коров против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 способствует выработке антител, которые обнаруживаются в молоке с помощью иммуноферментного анализа.

2. Определение наличия антител в молоке у коров через 28—42 дня после вакцинации служит показателем ее эффективности.

Таблица 1

**Динамика поствакцинальных антител к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 крупного рогатого скота в молоке от иммунизированных коров ( $\Delta E$ )**

№№ п/п	Дни взятия крови	Инфекционный ринотрахеит			Вирусная диарея			Парагрипп-3		
		Моно-вакцина	Трехвалентная вакцина	Контроль	Моно-вакцина	Трехвалентная вакцина	Контроль	Моно-вакцина	Трехвалентная вакцина	Контроль
1	До иммунизации	2,01±0,19	1,96±0,19	1,88±0,17	2,00±0,15	2,20±0,32	1,30±0,15	2,20±0,15	2,00±0,30	1,80±0,24
2	Через 14 дней	1,90±0,39	2,00±0,15	2,03±0,36	2,20±0,23	2,01±0,24	1,64±0,21	2,00±0,15	1,90±0,08	1,60±0,28
3	Через 28 дней	2,50±0,26	2,20±0,25	2,40±0,22	2,00±0,15	2,70±0,30	1,77±0,27	2,00±0,15	2,30±0,24	1,70±0,32
4	Через 42 дня	2,35±0,19	1,52±0,10	2,30±0,19	2,40±0,24	2,60±0,02	1,60±0,19	1,90±0,24	2,00±0,11	2,00±0,34