

2. При ассоциированной иммунизации молодняка кур против БН, ИБК и ИББ жидкой инактивированной вакциной ИЭВ им. С.Н. Вышелеского, по сравнению с использованием вакцины ФГУ ВНИИЗЖ, экономический эффект возрастает на 828000 руб., а в расчете на 1000 птиц – на 92000 руб.

Список литературы

1. Бобылёва, Г.А. Общие проблемы птицеводства / Г.А. Бобылёва // Материалы 6-го междунар. ветер. конгресса по птицеводству, Москва, 26-29 апреля 2010 г. / МСХ РФ; Федер. служба по вет. и фитосан. надзору РФ; Росптицесоюз. – Москва, 2010. – С. 7-13. 2. Вакцинация – основа эпизоотического благополучия птицеводств / О.Ф. Хохлачев [и др.] // Био. – 2008. – №5. – С. 23-24. 3. Меркулов, Г.А. Курс патолого-гистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград: Медицина, 1969. – 432 с. 4. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.]; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с. 5. Стоквис, Б. Смешанные инфекции кур-несушек / Б. Стоквис // Материалы 6-го междунар. ветер. конгресса по птицеводству, Москва, 26-29 апреля 2010 г. / МСХ РФ; Федер. служба по вет. и фитосан. надзору РФ; Росптицесоюз. – Москва, 2010. – С. 82-84.

STUDYING OF IMMUNOLOGIC EFFICACY OF ASSOCIATED VACCINES AGAINST NEWCASTLE DISEASE, INFECTIOUS BRONCHITIS AND INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN LABORATORY AND THE TECHNOLOGICAL CONDITIONS

Gromov I.N., Luschts A.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine,

Nasonov I.V.

Institute of Experimental Veterinary Science named after S.N. Vysheslesky, Minsk

It is positioned, that at utilization of associated vaccines against ND, IBH and IBD, developed in FGI ARRIAH (Russia) and Institute of Experimental Veterinary (Republic of Belarus) in an organism of birds similar morphological variations are observed and immunodefence of sufficient intensity is formed. At the same time at utilization of domestic associated vaccine monetary expenses for carrying out of veterinary measures considerably decrease.

УДК 619:616. 995.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЛИНГВАТУЛЁЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Кораблёва Т.Р.

ЮФ НУБиП Украины «Крымский агротехнологический университет»

Паразитарные болезни продолжают оставаться серьезной проблемой и угрозой для здоровья людей и животных. В борьбе с бактериальными и вирусными болезнями современная медицина добилась значительных успехов, тогда как многие проблемы в области медицинской и ветеринарной паразитологии еще не решены. К нерешенным вопросам следует отнести: отсутствие эффективных вакцин для профилактики паразитарных болезней, отсутствие эффективных методов прижизненной диагностики заболеваний у промежуточных хозяев, резистентность паразитов к лекарственным препаратам и сравнительную их токсичность [6, 7].

На сегодняшний день в АР Крым наблюдается тенденция увеличения случаев заболевания собак и крупного рогатого скота таким паразитарным заболеванием как лингватулёз. Заболевание является зоонозом, при этом для человека лингватулёз опасен на всех стадиях развития и вызывает явления *Larva migrans*. Лингватулёз изучен недостаточно, в современной учебной литературе по ветеринарной паразитологии сведения об этом заболевании отсутствуют [1-6]. В настоящее время разработаны методы прижизненной диагностики лингватулёза у дефинитивных хозяев (плотоядные животные), однако нет сведений о методах прижизненной диагностики лингватулёза у промежуточных хозяев, к которым относится и крупный рогатый скот.

Известно, что личиночные стадии паразита паразитируют в брыжеечных лимфатических узлах крупного рогатого скота и диагностируются только патологоанатомическим вскрытием [3, 4]. Лингватулёз еще не приобрел широкой распространённости в АР Крым, однако низкая информированность специалистов ветеринарной медицины об этиологии, патогенезе этого заболевания, отсутствие сведений о его прижизненной диагностике может создать в перспективе серьезную проблему как для животных, так и для человека. Исходя из вышеизложенного, мы поставили перед собой цель: разработать методы прижизненной диагностики лингватулёза у крупного рогатого скота.

Материал и методы исследования. Исследовали кровь у инвазированных личинками *Linguatula serrata* бычков красной степной породы 1,2-2 летнего возраста (n=6), содержащихся в частных подсобных хозяйствах посёлка Межгорье, Белогорского района, АР Крым. Гематологические и иммунологические исследования проводили на базе учебно-исследовательской лаборатории кафедры микробиологии, эпизоотологии и ветсанэкспертизы ЮФ НУБиП Украины «КАТУ».

Личинок лингватул выделяли из лимфатических узлов тонкого кишечника животных после их убоя. Для определения сенсibilизации организма исследованных животных из личинок лингватул готовили соматический антиген, применяя разработанную нами модификацию реакции агглютинации. Выделенные личинки возбудителя лингватулёза трехкратно центрифугировали в стерильном физиологическом растворе (3000 об/мин), затем помещали в стерильную фарфоровую ступку и переводили тканевые структуры личинок в гомогенное состояние, используя в качестве абразивного материала оксид алюминия. Для удаления абразивного материала полученную гомогенную взвесь центрифугировали (3000 об/мин), затем надсадочную жидкость отбирали в стерильные пробирки, добавив в них стрептомицин и пенициллин из расчёта 500 ЕД/мл и 100 ЕД/мл, соответственно. Приготовленный соматический антиген из личинок лингватул проверяли на стерильность путём высева на общеупотребительные и специальные питательные среды (МПА, МПБ, среды Сабуро, Эндо, Китта-Тароцци). Антиген вместе с питательными средами выдерживали в термостате при температуре 37°С в течение 10 суток.

Для прижизненной диагностики паразитарного заболевания определяли степень сенсibilизации крупного рогатого скота к соматическому антигену личинки лингватул в ходе постановки офтальмо- и внутрикожной аллергических проб.

Соматический антиген лингватул наносили в дозе 0,2 мл с помощью пипетки на конъюнктиву глаза животного. В качестве контроля на конъюнктиву второго глаза животного наносили 0,2 мл стерильного физиологического раствора. Учёт результатов реакции проводили через 12, 24, 48 и 72 часа после постановки офтальмопробы.

Для постановки кожной пробы соматический антиген вводили внутрикожно в среднюю треть шеи в дозе 0,2 мл. Учёт реакции также проводили через 12, 24, 48, и 72 часа после введения антигена животным.

Для серологической диагностики заболевания использовали разработанную нами модификацию реакции непрямой агглютинации (РНА). Для придания корпускулярности растворимым антигенам личинок лингватул мы применили энтеросорбент – препарат «Полисорб», в со-

Розділ 7. Імунологія, імуноморфологія та імунохімія

став которого входит оксид кремния, который, как известно, обладает высокой адсорбирующей активностью к белковым молекулам. Для облегчения визуального учёта результатов реакции непрямой агглютинации, соматический антиген перед постановкой реакции подкрасили гематоксилином (0,5 %). Постановку РНА осуществляли в пластиковых планшетах микротитратора Такачи.

Для постановки РНА исследуемые сыворотки крови животных разводили физиологическим раствором начиная с 1:2. Каждое последующее разведение было в два раза больше предыдущего. Постановка серологических реакций сопровождалась контролями антигена, сыворотки и физиологического раствора.

Для установления степени сенсибилизации животных к антигенами лингватул *in vitro* мы использовали реакцию лейкоцитоза при аллергической альтерации [7].

Результаты исследований. В лимфатических узлах тонкого кишечника забитых животных находящихся в опыте, нами обнаружены личинки лингватул. Для выделенных личинок паразита было характерно слабо сегментированное тело на поверхности которого находятся мелкие щетинки. Ротовое отверстие личинок паразитов овальной формы, оно окружено парно расположенными четырьмя хитиновыми крючками. Морфологические особенности личинок возбудителя лингватулёза отражены на рис.1.

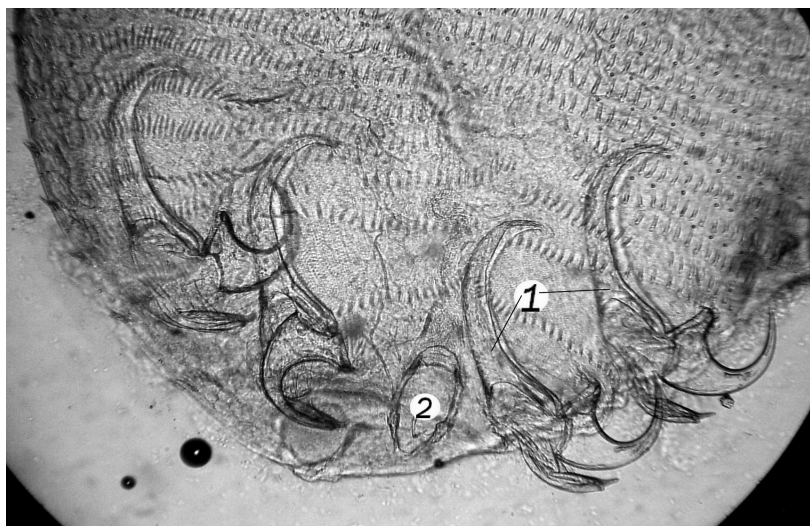


Рис. 1 Головной конец личинки возбудителя лингватулёза.

Примечание: 1-хитиновые крючки; 2-ротовое отверстие. Ув.7 x 20. Нативный препарат.

Результаты подсчёта количества эритроцитов и лейкоцитов крови, а также показателей лейкоцитарной формулы отражены в табл. 1 и 2

Таблица 1 – Показатели эритроцитов и лейкоцитов крови животных

Показатель	Норма	$M \pm m$	>нормы %	<нормы %
Эритроциты Т/л	5,0-7,5	6,08±0,25	-	-
Лейкоциты Г/л	4,5-12	9.90±0,74	-	-

Из данных табл. 1 видно, что количество эритроцитов и лейкоцитов крови животных, находящихся в опыте, не выходило за пределы физиологической нормы.

Таблица 2 – Результаты подсчёта лейкоцитарной формулы крови

Показатель	Норма	$M \pm m$	>нормы %	<нормы %
Базофилы	0.2	1,00 ± 0,45	-	-
Эозинофилы	5-8	9,85 ± 0,43	85,7	-
Юные нейтрофилы	0-1	0,42 ± 0,20	-	-
Палочкоядерные нейтрофилы	2-5	2,42 ± 0,18	-	-
Сегментоядерные нейтрофилы	20-35	19,85 ± 0,76	-	42,8
Лимфоциты	40-65	64,14 ± 0,90	-	-
Моноциты	2-5	2,28 ± 0,45	-	-

Через 48 часов с начала постановки аллергической пробы интенсивность реакции организма исследуемых животных ослабевала, а через 72 часа отсутствовала полностью. Внутрикожное введение соматического антигена личинок лингватул не вызвало у исследованных животных визуально заметной реакции.

С помощью РНА мы обнаружили в сыворотке крови исследованных животных агглютинины, титр которых варьировал от 1:8 до 1:16. Для контрольных проб сывороток крови РНА с исследованными антигенами была отрицательной.

Таким образом, наши исследования показали, что при лингватулёзе крупного рогатого скота в организме животных формируются иммунные приспособительные механизмы, которые проявляются реакцией гиперчувствительности. Как мы полагаем, низкие титры агглютининов в крови заражённых личинками лингватул животных могут быть обусловлены супрессирующим действием их антигенов, что, как известно, характерно для патогенеза многих инвазионных заболеваний [7, 8].

Выводы. Наиболее эффективным методом оценки сенсбилизации крупного рогатого скота к соматическому антигену из личинок лингватул является офтальмопроба, позволяющая выявить до 57 % зараженных паразитами животных.

Титр агглютининов сыворотке крови животных больных лингватулезом варьирует в РНА от 1:8 до 1:16.

Список литературы

1. Ветеринарная паразитология / Г.М. Урхарт, Дж. Эрмур, Дж. Дункан и др. – М.: Аквариум, 2000. – 352 с.
2. Паразитология и инвазионные болезни животных: Учебник / М.Ш. Акбаев, А.А. Водянов, Н. Е. Косминков и др.; Под ред. М. Ш. Акбаева. – М.: Колос, 1998. – 744 с.
3. Практикум із паразитології / В.Ф. Галат, Ю.Г. Артеменко, М.П. Прус та інш.; За ред. В.Ф. Галата. – К.: Урожай, 1999. – 192 с.
4. Руководство по ветеринарной паразитологии / А.И. Ятусевич, В.Ф. Галат, А.В. Березовский и др.; Под ред. В.Ф. Галата и А.И. Ятусевича. – Минск: Техноперспектива, 2007. – 482 с.
5. Bach, L., Supperer, R. Veterinarmedizinische Parasitologie. – Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey, 1992. – 906 p.
6. Mehlhorn, H., Duwel, Raether, W. Diagnose und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren. – Stuttgart – Jena – New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. – 530 p.
7. Rommel, M., Eckert, J., Kutzer, E. Veterinarmedizinische Parasitologie. – Berlin: Parey Buchverlag, 2000. – 916 p.

IMUNOLOGICAL METHODS OF DIAGNOSTICS OF CATTLE LINGVATULOSIS

Korablyova T.R.

Crimean Agrotechnological University

It is set that for diagnostics of larva lingvatula of cattle the complex estimation of degree of sensibility of organism of animals is needed by the antigens of larvae of exciter in vitro and in vivo.

УДК 619:616.98:578.825.11

ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ЖИВОТНЫХ НА ВВЕДЕНИЕ ИНАКТИВИРОВАННОГО ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА С РАЗЛИЧНЫМИ АДЪЮВАНТАМИ

Красочко В.П.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

В структуре заболеваний крупного рогатого скота заболевания молодняка вирусной этиологии занимают одно из ведущих мест. Согласно ветеринарной отчетности, заболеваемость телят с поражением респираторных и желудочно-кишечных органов достигает до 90-95% от числа родившихся, т.е. каждый новорожденный теленок переболеет до 6 месячного возраста 1 раз. В этой связи животноводству наносится значительный экономический ущерб. В этиологической структуре инфекционных заболеваний телят наибольшее значение играет инфекционный ринотрахеит (ИРТ КРС). Болезнь характеризуется поражением верхних дыхательных путей с проявлением гнойных носовых истечений, конъюнктивитов. Признаками общего недомогания являются лихорадка, депрессия, снижение аппетита. Вирус может также поражать половую систему и вызывать пустулезный вульвовагинит и баланопостит. При вскрытии телят, павших при респираторной форме ИРТ выявляют ринит, ларингит и трахеит. Часто инфекция протекает субклинически. Вторичные бактериальные инфекции могут вызывать более серьезные осложнения [1].

Одним из основных методов борьбы с инфекцией является специфическая профилактика. В настоящее время в различных странах мира выпускают живые и инактивированные вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Однако в Республике Беларусь биологической промышленностью данные вакцины не выпускаются [2].

По требованиям, вакцины должны защищать крупный рогатый скот в случае возникновения инфекции и заметно уменьшить последующее распространение полевого вируса. Вакцины не должны вызывать болезнь, аборт, или любую местную или системную реакцию, а живые вакцины – должны быть генетически устойчивы.

Вопросы конструирования вакцины и ее максимальная эффективность неразрывно связаны с подбором как инактивирующих средств, так и адъюванта, обладающего максимальным сорбционным действием и иммуностимулирующим эффектом.

В качестве минеральных адъювантов наиболее часто используются гидрат окиси алюминия (гидроксал). Однако он может не являться универсальным для всех антигенов. По мнению Н.В. Медуница [3] один и тот же адъювант, способный стимулировать иммунитет, создаваемый одним антигеном, может оказаться инертным в отношении другого.

В последние годы в ветеринарии стали широко использовать адъюванты и на основе различных минеральных масел, из которых получается стойкая водно-масляная эмульсия. Использование таких адъювантов способствует функциональной активации Т-, В-лимфоцитов и макрофагов, удлинению фазы взаимодействия антигена с иммунокомпетентными клетками, создает дополнительное неспецифическое раздражение иммунной системы и, таким образом, резко усиливает иммунный ответ организма животных. Адъюванты в виде водно-масляных эмульсий действуют (функционируют) путем формирования подвижного (переносного) депо антигенов, которые могут стать мишенью для клеток иммунной системы. Депо осуществляет медленное выделение антигенов и таким образом улучшает представление антигена и обеспечивает значительное увеличение иммунного ответа и эффективность вакцины. Однако применение масляных адъювантов в составе вакцин имеет некоторые недостатки: вызывает местную реактогенность и создает неудобства в применении из-за повышенной вязкости. Новым направлением в конструировании вакцин является использование биополимеров – особенно на основе целлюлозы и хитозана [4].

Целью настоящего исследования явилось изучение иммунного ответа у лабораторных животных на введение инактивированного вируса инфекционного ринотрахеита с различными адъювантами.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях кафедры эпизоотологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского» и в виварии академии.

Для работы использован вирус ИРТ (штамм КМИЭВ-6). Накопление вируса проводилось на культуре клеток МДБК. В качестве ростовой питательной среды использована среда Игла (МЭМ) с 10 % нормальной сыворотки крови крупного рогатого скота. Поддерживающая среда – среда Игла (МЭМ) с 2 % эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота. Инактивацию вируса ИРТ КРС проводили с помощью теотропина в 0,2 % концентрации.

В качестве адъювантов использованы: эмульсиген в 10 % концентрации (производство MVP Laboratories, Inc., США), суспензия активированной целлюлозы в 2,5 % (производство Института физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Беларусь) и хитозана сукцинат в 1 % концентрации (производство ОАО «Биопрогресс», Россия).