лактирующих коров находились в пределах физиологической нормы.

Список литературы

1. Абельдинов Р. Б. Взаимосвязь молочной продуктивности и биохимического состава крови коров симментальской породы в ТОО «Галицкое» / Р. Б. Абельдинов, Т. К. Бексеитов // Аграрная наука – сельскому хозяйству. – Барнаул : Издательство Алтайского ГАУ, 2016. – С. 81–82.

2. Анисимова Е. И. Биологические особенности и адаптационные качества симментальского скота разных типов / Е. И. Анисимова, Е. Р. Гостева // Молочное и мясное скотоводство. – 2010. – № 2. – С. 14–16.

3. Мкртчян Г. В. Показатели биохимического и клинического анализа крови у коров джерсейской породы с разным уровнем белка в молоке / Г. В. Мкртчян // Вестник КрасГАУ. – 2023. – № 2. – С. 153–157.

4. Хорошайло Т. А. Мероприятия по улучшению продуктивности дойного стада крупного рогатого скота / Т. А. Хорошайло, Ю. А. Алексеева, М. Х. Хаткова [и др.] // Вестник КрасГАУ. – 2023. – № 2(191). – С. 113–121.

DOI: 10.48612/sbornik-2026-1-16
УДК 619:616.98:578.833.3:615.371

ОЦЕНКА АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ МОНОВАЛЕНТНЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ ВИРУСА ДИАРЕИ КРС ПЕРВОГО И ВТОРОГО ГЕНОТИПОВ

Кононова Светлана Владимировна, канд. биол. наук
Бубякин Роман Игоревич, аспирант
Бьядовская Ольга Петровна, канд. биол. наук
Кононов Александр Владимирович, д-р вет. наук
Андреев Сергей Алексеевич, аспирант
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Российская Федерация

В настоящем исследовании проведена оценка антигенной активности экспериментальных образцов моновалентных вакцин против вируса диареи КРС, изготовленных на основе двух штаммов вируса- первого и второго генотипа. Было установлено, что в крови лабораторных животных (морских свинок и кроликов) вакцины индуцировали выработку вируснейтрализующих антител в титре от 6,03±0,29 log_2 до 6,17±0,14 log_2 у морских свинок и от 7,02±0,14 log_2 до 7,00±0,10 log_2 у кроликов. При анализе формирования иммунного ответа у телят отмечали достоверное повышение уровня антител к вирусным антигенным компонентам вакцины, в сравнении с исходным на 21 сутки (среднее значение s/p 80-90 %). На 35 сутки среднее значение s/p антител к вирусу ВД КРС составляло 142 % (вакцина против ВД-1 КРС) и 130 % (вакцина против ВД-2 КРС).

Ключевые слова: вирусная диарея; крупный рогатый скот; антигенная активность; генотипы вируса; титр антител

EVALUATION ANTIGENIC ACTIVITY IN PILOT BATCHES OF MONOVALENT VACCINES AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV1 AND BVDV2)

Kononova Svetlana Vladimirovna, PhD Biol. Sci.
Bubyakin Roman Igorevich, PhD student
Biadovskaya Olga Petrovna, PhD Biol. Sci.
Kononov Alexander Vladimirovich, Dr. Vet. Sci.
Andreev Sergey Alekseevich, PhD student

FSBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russian Federation

The present study evaluates antigenic activity in pilot batches of monovalent vaccines against bovine viral diarrhea virus (BVD) developed using two BVD virus strains of Genotype 1 and 2. The study found that the vaccines induced virus-neutralizing antibodies in laboratory animals (guinea pigs and rabbits) at titers ranging from 6.03±0.29 to 6.17±0.14 $\log_2$ in guinea pigs and from 7.02±0.14 to 7.00±0.10 $\log_2$ in rabbits. Analysis of the immune response in calves revealed a significant increase in antibody levels on Day 21 against the viral antigenic components of the vaccine compared to the baseline (mean s/p value 80–90%). On Day 35, the mean s/p value of antibodies against BVDV was 142% (vaccine against BVDV-1) and 130% (vaccine against BVDV-2).

Keywords: bovine viral diarrhea; cattle; antigenic activity; virus genotypes; antibody titer

Вирусная диарея крупного рогатого скота (ВД КРС) – высоко контагиозная болезнь, характеризующаяся поражением органов дыхания и желудочно-кишечного тракта, абортами, бесплодием, врожденными уродствами плода, иммунодефицитом и персистенцией возбудителя [4]. В настоящее время данная инфекция широко распространена и является одной из наиболее сложных проблем инфекционной патологии промышленного скотоводства, причиняющая большой экономический ущерб [1, 3].

Вирус вызывает многообразные клинические формы инфекции. Причиной полиморфизма клинической картины болезни является генетическое и фенотипическое разнообразие возбудителя ВД КРС.

Вирус представлен тремя генотипами: ВД генотипа 1 (пестивирус А, Pestivirus bovis), ВД генотипа 2 (пестивирус В, Pestivirus tauri), ВД генотипа 3 (пестивирус Н, HoBi-подобный пестивирус, Pestivirus brazilense), а также двумя фенотипами - цитопатогенным (ЦП) и нецитопатогенным (НЦП). Одновременно генотипы подразделяются на субтипы: известно о 21 субтипе первого генотипа ВД (1a-1u), шести субтипов второго генотипа (2a-2f) и четырех третьего [2, 3, 5].

Тенденция биотипов и генотипов вируса к мутациям и рекомбинациям, которые приводят к изменению вирулентности и антигенности возбудителя, затрудняют проведение профилактических мероприятий, а также диагностику заболевания.

Первый генотип вируса (ВД-1 КРС) распространен повсеместно, но чаще очаги возникают в странах Европы. Наибольшее количество (до 21 субтипа) выявлено у КРС в Италии и Китае. Подтипы 1a и 1b – наиболее распространены и изучены [2, 3].

На территории России за последние 20 лет выявляли случаи заболевания ВД 1 генотипа 18 субтипов. Установлено широкое распространение вируса 1 типа среди КРС в Центральном регионе РФ. На территории Сибирского региона при исследовании молочных комплексов среди аборигенных и импортированных животных установлена циркуляция 11 субтипов ВД-1: 1a (5 %), 1b (35 %), 1c (5 %), 1d (10 %), 1f (20 %), 1g, 1i (по 2,5 %), 1j, 1k, 1p и 1r (по 5 %). Преобладающим оказался ВД-1b, выявленный у имеющего различного характера патологию местного и импортного скота [6]. На территории Приволжья регистрировали субтипы 1b (в Кировской области), 1f и 1i (в Самарской области и республики Башкортостан [2].

Штаммы вируса ВД КРС второго генотипа (ВД-2 КРС) встречаются реже, чем штаммы вируса ВД КРС первого генотипа, они объединяют штаммы, вызывающие острое и сверхострое течение болезни с высокой смертностью, тромбоцитопенией и геморрагиями [1, 3]. О выделении ВД второго генотипа от КРС сообщали в США, Канаде, Бразилии, Уругвае, Германии, Словакии, Италии, Южной Корее, Японии, Монголии [2].

На территории РФ на протяжении пятнадцати лет уже фиксировали случаи клинического поражения животных, вызванных возбудителем ВД-2 КРС. Котеневой и соавт. [6] возбудитель был выявлен во внутренних органах абортированного плода и мертворожденного теленка местной породы. Нарушения респираторного характера, вызванные вирусом ВД-2 КРС регистрировали у телят на территории Уральского хребта и Западной Сибири. [4]. В Сибири у животных импортного и отечественного происхождения обнаружены 3 субтипа ВД-2 – 2a, 2b и 2c. Из проведенных ранее исследований было установлено, что субтип 2a признан, как один из основных этиологических агентов патологии воспроизводства [8].

Циркуляции большого количества субтипов вируса ВД указывает на высокую генетическую вариабельность вируса и, как следствие, постоянно увеличивающиеся генотипическое и фенотипическое многообразие штаммов.

Неотъемлемой составляющей при поддержании эпизоотического благополучия при ВД КРС является вакцинопрофилактика, которая занимает важное место в методологической схеме оздоровления хозяйств и является обычной первостепенной мерой. Вакцинация должна защитить от виремии и распространения вируса, предотвратить заражение клеток-мишеней репродуктивной и лимфатической систем, с целью недопущения инфицирования плода и развития иммуносупрессии. Кроме того, эффективная вакцина должна обеспечивать перекрестную защиту от циркулирующих подтипов ВД-1 и ВД-2.

Широкая генетическая вариабельность различных штаммов вируса ВД КРС 1-го генотипа (21 подтип) и 2-го генотипа (6 подтипов) препятствует успешной вакцинации во всем мире. Согласно базы данных VIOLIN [9], в настоящее время в продаже имеется более 130 лицензированных вакцин против ВД КРС, но, несмотря на их широкое применение, многие стада не избавлены от вируса, и часто регистрируются повторные заражения возбудителем после вакцинации.

Существование иммунологически различных типов вируса, переболевание которыми не создает выраженной гетерологичной защиты, способствовало разработке вакцин, изготовленных на основе штаммов двух генотипов вируса, либо на основе разных субтипов.

Например, вакцина производства Zoetis, США содержит в инактивированном компоненте ВД-1 и ВД-2 (штаммы 5960 и 53637). Живая вакцина производства Boehringer Ingelheim Animal Health, Великобритания, содержит в составе штаммы ВД-1 (штамм «КЕ-9») и ВД-2 (штамм «NY-93»). Оба штамма являются нецитопатогенными вариантами вируса.

На сегодняшний день на территории РФ биопрепараты, направленные на специфическую профилактику ВД КРС, содержат в своих составах преимущественно штаммы вируса ВД КРС подтипов 1a или 1b. Вакцинных препаратов, содержащих в своем составе вирус ВД КРС второго генотипа на данный момент в РФ не зарегистрировано.

Расширение арсенала вакцинных штаммов вируса ВД КРС, принадлежащих к разным генетическим группам, а также разработка средств специфической профилактики заболевания, включающая в себя биологические препараты, обладающие выраженной гетерологичной защитой, представляет актуальное значение.

Целью настоящих исследований являлось оценка антигенных свойств экспериментальных образцов моновалентных вакцин против ВД КРС, содержащих в своем составе в качестве антигена первый и второй генотип вируса.

Методика исследований. Экспериментальные образцы вакцин против ВД КРС первого и второго генотипов эмульсионные инактивированные были изготовлены на базе ФГБУ «ВНИИЗЖ». В своем составе вакцины содержали инактивированные 1,2-аминоэтилазиридином культуральные суспензии» вируса ВД КРС первого генотипа (подтип 1a) и вируса ВД КРС второго генотипа (подтип 2a) (не менее $1{,}0\times10^5$ $ТЦД_{50}$ до инактивации), с добавлением масляного адъюванта, в соотношении 30:70, по массе.

Для изучения антигенной активности образцов вакцин на лабораторных животных были сформированы 2 группы клинически здоровых морских свинок по 6 голов в группе, массой 0,4–0,5 кг и 2 группы кроликов, по 5 голов в группе, массой 2,0–2,5 кг, без наличия специфических антител к вирусам-компонентам вакцин. Группа 3, в обоих случаях, служила контролем.

Иммунизацию лабораторных животных экспериментальными образцами вакцин против ВД КРС проводили двукратно по 0,5 и 1,0 $см^3$, соответственно, с интервалом 20–25 суток. Контрольной группе вводили стерильный физиологический раствор. Через 14 суток после ревакцинации животных обескровливали.

Для определения титра специфических антител в крови лабораторных животных проводили постановку реакции микронейтрализации (РМН).

РМН ставили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах по стандартной методике с рабочей дозой соответствующего вируса (200–300 $ТЦД_{50}$/100 $см^3$). Вируснейтрализующий титр антител в сыворотках крови лабораторных животных выра-

жали как предельное ее разведение, ингибирующее развитие ЦПД вируса в 50 % зараженных культур клеток.

С целью изучения антигенной активности инактивированных моновалентных образцов вакцин против ВД КРС на основе первого и второго генотипов в производственных условиях, вакцины применяли в условиях ведения животноводства в хозяйстве Владимирской области. Для этого были сформированы 3 опытные группы телят, по 5 голов в каждой, возрастом от 14 до 30 дней. Телят первой и второй групп вакцинировали экспериментальными образцами вакцин против ВД КРС первого и второго генотипов, двукратно, с интервалом 21 день, внутримышечно в среднюю треть шеи в дозе 2,0 см^3. Третья группа служила контролем. Отбор сывороток крови проводили по следующей схеме: до вакцинации, перед ревакцинацией (на 21 день), и после ревакцинации (на 35 день).

Сыворотку крови телят на наличие антител к вирусу ВД КРС исследовали с использованием тест-системы на основе ИФА (IDEXX). Интерпретация результатов основана на расчёте процента позитивности s/p (s/p %): s/p % <20 % – отрицательно, s/p % ≥30 %- положительно, 20 % ≤ s/p <30 % – сомнительно.

Статистический анализ результатов. Обработка полученных данных производилась с использованием статистических методов в программе Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. При изучении антигенной активности экспериментальных образцов моновалентных вакцин на морских свинках было установлено, что средний титр вирус-нейтрализующих антител в сыворотках крови морских свинок, иммунизированных образцами, содержащими в своём составе антиген вируса ВД КРС первого генотипа, либо антиген второго генотипа на 35 день, составил 6,03±0,29 log_2 - 6,17±0,14 log_2, соответственно (таблица 1).

Дальнейшие исследования были направлены на изучение антигенной активности экспериментальных образцов моновалентных вакцин на кроликах (таблица 2).

Результаты РМН на 35 день после иммунизации показали, что двукратное введение моновалентных образцов вакцин на основе антигенов ВД-1 и ВД-2 индуцировало выработку антител в сыворотке крови кроликов на 35 день опыта в титре от 7,02±0,14 log_2 до 7,00±0,10 log_2, соответственно.

Таблица 1 – Средний уровень антител у иммунизированных морских свинок к ВД КРС в РМН, (n=3, p<0,05)

Антиген	Средний по группе титр антител до иммунизации (по данным РМН), log_2 (M±σ)	Средний по группе титр антител на 35 день после двукратной иммунизации (по данным РМН), log_2 (M±σ)
вируса ВД-1	<1,0	6,03±0,29
вируса ВД-2	<1,0	6,17±0,14
контроль	<1,0	<1,0

Таблица 2 – Динамика сероконверсии к вирусу ВД КРС у кроликов (по данным РМН), (n=3, p<0,05)

Группа животных	Средний титр антител (по данным РМН), log_2 (M±σ)		
	0 день (до иммунизации)	21 день (после иммунизации) повторное введение антигена	35 день (после иммунизации)
Экспериментальная (ВД-1)	–	4,52±0,12	7,02±0,14
Экспериментальная (ВД-2)	–	5,02±0,15	7,00±0,10
Контрольная	–	–	–

При анализе формирования иммунного ответа у телят были получены следующие результаты. Серологические исследования проб сывороток крови методом ИФА, отобранных до вакцинации, показали наличие антител к вирусу ВД КРС у части животных - среднее значение s/p антител к вирусу ВД КРС у телят 14-30 сут возраста составляло 40 %, что может свидетельствовать о наличии колостральных антител (рисунок). После первой вакцинации, на 21 день, отмечали достоверное повышение уровня антител к вирусным антигенным компонентам вакцины, в сравнении с исходным (среднее значение s/p 80-90 %). На 35 сутки (14 сутки после второго введения препарата) среднее значение s/p антител к вирусу ВД КРС составляло 142 % (вакцина против ВД-1) и 130 % (вакцина против ВД-2), что свидетельствует о приросте уровня антител после двукратной иммунизации в 3,5 раза по сравнению с исходным.

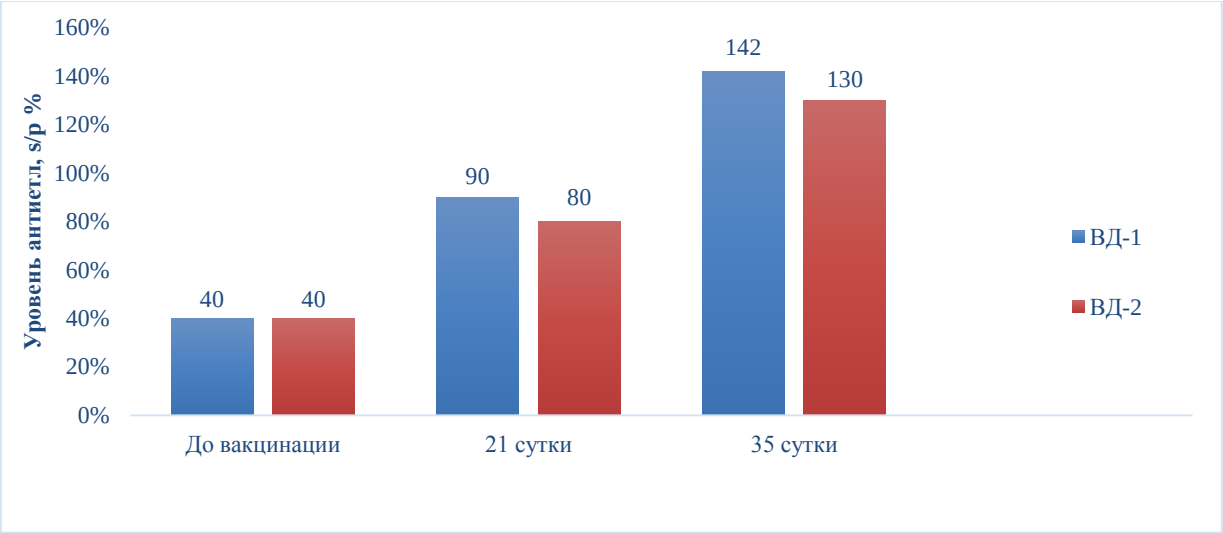

Рисунок – Динамика формирования гуморального иммунитета у телят к вирусу ВД КРС

Таким образом, в опытах на лабораторных животных и телятах было показано, что испытуемые образцы моновалентных вакцин обладают выраженной антигенной активностью.

Выводы. Интенсивная работа по профилактике и оздоровлению животноводческих хозяйств от ВД КРС проводится во многих странах мира. При этом нет единого подхода к проведению оздоровительных мероприятий против данного заболевания.

Одни страны предлагают использовать исключительно метод выявления и удаления из стада животных, зараженных ВД КРС, указывая на то, что противоэпизоотические мероприятия, акцентированные только на применении вакцин, недостаточно эффективны. При этом выявление и удаление из стада персистентно (ПИ) инфицированных животных является обязательным условием и должно предшествовать вакцинации всего поголовья.

Другие страны рекомендуют проводить вакцинацию всего маточного стада, обеспечивающей предупреждение появления новых ПИ-животных.

В любом случае, необходимо учитывать особенности ведения животноводства в каждых, отдельно взятых странах, с учетом их экономических интересов.

Вакцинопрофилактика является неотъемлемой составляющей при поддержании эпизоотического благополучия при ВД КРС.

Учитывая широкую генетическую вариабельность различных штаммов вируса ВД КРС, вакцины, содержащие в своем составе разные генотипы или даже разные субтипы вируса, будут обеспечивать более надёжную иммунную реакцию организма, направленную на защиту от инфекции.

Проведенные исследования и полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что штаммы вируса ВД-1 и ВД-2, вошедшие в состав экспериментальных образцов моновалентных вакцин, могут являться кан-

дидатами для изготовления опытных партий комбинированных ассоциированных вакцин, что позволит достичь более высокого уровня специфической профилактики данного заболевания.

Список литературы

1. Бубякин Р. И. Вирусная диарея крупного рогатого скота: распространение, характеристика, профилактика, диагностика и меры борьбы с заболеванием / Р. И. Бубякин, С. В. Кононова, О. П. Бьядовская [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2022. – Т. 18. – С. 99–121.

2. Бубякин Р. И. Изучение и идентификация изолятов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота, выделенных на территории России с 2019 по 2022 г. / Р. И. Бубякин, С. В. Кононова, И. Н. Шумилова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2023. – Т. 12. – № 4. – С. 315–321.

3. Глотов А. Г. Вирусная диарея-болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота / А. Г. Глотов // Ветеринария. – 2008. – № 6. – С. 56–60.

4. Глотов А. Г. Вспышка заболевания крупного рогатого скота, вызванная вирусом диареи второго вида / А. Г. Глотов, Т. И. Глотова, С. В. Котенева [и др.] // Ветеринария. – 2019. – № 3. – С. 3–8.

5. Глотов А. Г. Генетический полиморфизм и распространение пестивирусов (Flaviviridae: Pestivirus) крупного рогатого скота в мире и в Российской Федерации / А. Г. Глотов, Т. И. Глотова, А. В. Нефедченко [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2022. – Т. 67. – № 1. – С. 18–26.

6. Котенева С. В. Генетический полиморфизм возбудителя вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота на молочных комплексах Сибири / С. В. Котенева, А. В. Нефедченко, Т. И. Глотова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – № 6. – С. 1238–1246.

7. de Oliveira P. S. B. Subtyping bovine viral diarrhea virus (BVDV): Which viral gene to choose? / P. S. B. de Oliveira, J. V. J. Silva Jr, R. Weiblen [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. – 2021. – Vol. 92. – P. 104891. – DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104891.

8. Ridpath J. F. Bovine viral diarrhea virus: global status / J.F. Ridpath // Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. – 2010. – Vol. 26, No. 1. – P. 105–121. – DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.10.007.

9. Violin Vaccine Investigation and Online Information Network. BVDV. – URL: http://www.violinet.org/vaxquery/query_detail.php?c_pathogen_id=169&keywords=bvdv (дата обращения: 28.03.2021).

10. Yelsibay K. Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhea virus / K. Yelsibay, G. Alpay, P. Becher // Viruses. – 2017. – Vol. 9, No. 6. – P. 128. – DOI: 10.3390/v9060128.

DOI: 10.48612/sbornik-2025-1-17
УДК 619:616.98:578.831.31:636.22/.28

МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В МЕЛКИХ МОЛОЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ

Котенева Светлана Владимировна, канд. вет. наук
Глотова Татьяна Ивановна, д-р биол. наук
Нефедченко Алексей Васильевич, д-р вет. наук
Глотов Александр Гаврилович, д-р вет. наук
ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), пос. Краснообск, Новосибирская область, Российская Федерация

Представлены результаты молекулярно-генетических и бактериологических исследований 1629 проб биологического материала от крупного рогатого скота разных возрастных групп с респираторными заболеваниями, поступивших из мелкотоварных молочных хозяйств Сибири. Показано участие в возникновении респираторной патологии широкого спектра вирусных и бактериальных патогенов как в моноварианте, так и в различных сочетаниях.