

**БАБИНЦЕВА ТАТЬЯНА ВИКТОРОВНА**

**ЭПИЗООТОЛОГИЯ НЕКРОБАКТЕРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО  
СКОТА В УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ И ИММУНОМОРФОГЕНЕЗ ПРИ  
ЕГО ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКЕ**

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с  
микотоксикологией и иммунология

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и  
морфология животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» и ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

**Научный руководитель**

**Михеева Екатерина Александровна**

кандидат ветеринарных наук

**Научный консультант**

**Макаев Харис Нуртдинович**

доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РТ, заслуженный работник сельского хозяйства РФ

**Официальные оппоненты**

**Ермолаев Валерий Аркадьевич**

доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии, акушерства, фармакологии и терапии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

**Иванов Александр Ильич**

доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней, зоогигиены и ветсанэкспертизы ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»

**Ведущая организация**

ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «11» декабря 2018 года в 14<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на сайтах <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://www.казветакадемия.рф>

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 года

Учёный секретарь  
диссертационного совета

Г.Р. Юсупова

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Болезни дистального отдела конечностей, в том числе и некробактериоз, по распространенности и наносимому экономическому ущербу, занимают одно из ведущих мест в патологии крупного рогатого скота (А.В. Иванов с соавт., 2012; С.В. Лопатин с соавт., 2014; Х.Н. Макаев с соавт., 2014; Е.А. Михеева с соавт., 2013; А.А. Самоловов с соавт., 2013; Д.А. Хузин, 2015; М.Ш. Шакуров, 2000; S. Dippel et al., 2009).

Некробактериоз относится к факторным инфекционным заболеваниям возбудитель, которого постоянно присутствует в желудочно-кишечном тракте животных и окружающей среде. Поэтому для данной болезни характерно стационарное неблагоприятие в течение многих лет. Заболеваемость некробактериозом в Российской Федерации в среднем колеблется от 4% до 30% (М.И. Барашкин с соавт., 2016; Б.Н. Бубеев, 2004; А.В. Иванов с соавт., 2012; Х.Н. Макаев с соавт., 2001; Е.В. Малахова с соавт., 2005; С.Д. Панасюк, 2007; В.Ю. Тарасов, 2011; Д.А. Хузин с соавт., 2014).

Одним из этапов ликвидации и профилактики некробактериоза крупного рогатого скота является создание напряженного иммунного ответа к возбудителю данного заболевания. В доступной нам литературе сведения об иммуноморфологических исследованиях крупного рогатого скота после иммунизации против некробактериоза представлены не достаточно полно. В связи с чем, сравнительная патоморфологическая оценка иммуногенных качеств отечественных вакцинных препаратов, предназначенных для выработки иммунитета против некробактериоза крупного рогатого скота, с учетом предрасполагающих факторов развития данного инфекционного заболевания, является актуальным направлением в изучении поствакцинального иммунитета.

**Степень разработанности темы.** Результаты анализа научной литературы свидетельствуют о разнообразной реакции крупного рогатого скота на введение вакцин против некробактериоза, которая может быть обусловлена влиянием иммуно-метаболических, нейрогуморальных регуляторных механизмов в организме, условиями содержания животных в различных природно-климатических зонах Российской Федерации. Изучение особенностей проявления иммуноморфогенеза при применении вакцин на основе фузобактерий могут обосновать принципы развития специфического иммунного ответа при профилактике некробактериоза.

**Цель и задачи исследований.** Цель исследований – проведение анализа эпизоотической ситуации по некробактериозу в хозяйствах Удмуртской Республики, и сравнительное изучение особенностей иммуноморфологических изменений в орга-

нах и тканях крупного рогатого скота после введения ассоциированной вакцины против некробактериоза «Нековак» и формол-эмульсионной вакцины.

В соответствии с поставленной целью решали следующие задачи:

1. провести мониторинг по некробактериозу крупного рогатого скота в Удмуртской Республике за 2009 – 2016гг.;
2. изучить клинические формы проявления болезней дистального отдела конечностей различной этиологии;
3. установить влияние рациона кормления и состояния органов пищеварения на обменные процессы и структуру копытного рога крупного рогатого скота;
4. сравнить гематологические и биохимические показатели крови у бычков после вакцинации против некробактериоза ассоциированной вакциной «Нековак» и формол-эмульсионной вакциной (ФЭВ);
5. выявить и сравнить характер иммуноморфологических изменений в органах и тканях крупного рогатого скота после вакцинации против некробактериоза ассоциированной вакциной «Нековак» и ФЭВ.

**Научная новизна.** Впервые проведен мониторинг по оценке распространения некробактериоза крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Удмуртской Республики в период за 2009 – 2016гг. Изучено влияние рациона кормления, состояния органов пищеварения на обменные процессы и структуру копытцевого рога при разной степени его поражения. Получены данные характеризующие иммуноморфологические изменения при вакцинации крупного рогатого скота против некробактериоза с использованием ассоциированной вакцины «Нековак» и ФЭВ, и проведен их сравнительный анализ.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты проведенных исследований уточняют и дополняют сведения о предрасполагающих факторах болезней дистального отдела конечностей и об иммуноморфологических изменениях в иммунокомпетентных органах после использования вакцин против некробактериоза крупного рогатого скота. Представленные данные могут быть использованы при усовершенствовании системы мероприятий по искоренению некробактериоза крупного рогатого скота в хозяйствах Удмуртской Республики и совершенствовании методов иммунологического контроля вакцинных препаратов.

Полученные данные используются в учебном процессе для студентов по специальности "Ветеринария" и "Зоотехния", написании учебных пособий и практических рекомендаций для практикующих ветеринарных врачей и зоотехников в агропромышленном комплексе.

**Методология и методы исследований.** В работе использовали эпизоотологические, клинические, гематологические, серологические, иммунологические, мор-

фологические, гистологические, гистохимические, морфометрические, статистические методы исследований.

Клинический осмотр и хирургическую диспансеризацию проводили на поголовье крупного рогатого скота в ООО «Россия» и ООО «Вера» Удмуртской Республики. В опыте по изучению морфологических и иммуноморфологических изменений после вакцинации крупного рогатого скота против некробактериоза вакциной «Нековак» и ФЭВ, использовали бычков в возрасте 14 – 15 месяцев, белых нелинейных мышей.

Проводили эпизоотологический мониторинг по некробактериозу крупного рогатого скота в Удмуртской Республике. При этом изучали основные причины и факторы, способствующие развитию болезней дистального отдела конечностей, поствакцинальные иммуноморфологические изменения после иммунизации бычков против некробактериоза вакциной «Нековак» и ФЭВ и проводили их сравнительный анализ.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- мониторинг некробактериоза крупного рогатого скота как факторной инфекции в скотоводческих хозяйствах Удмуртской Республики;
- клинические формы проявления болезней дистального отдела конечностей крупного рогатого скота различной этиологии в исследованных скотоводческих хозяйствах;
- влияние рациона кормления и состояния органов пищеварения на обменные процессы и структуру копытцевого рога крупного рогатого скота с различной степенью поражения;
- особенности проявления изменения иммунологической реактивности организма крупного рогатого скота после вакцинации против некробактериоза вакциной «Нековак» и ФЭВ;
- сравнительная оценка иммуно- и патоморфологических изменений в различных органах и тканях животных после вакцинации против некробактериоза ассоциированной вакциной «Нековак» и ФЭВ.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Научные положения, заключения и выводы основаны на анализе результатов исследований, полученных на достаточном по численности материале. Достоверность полученных данных подтверждена статистической обработкой результатов методом вариационной статистики с применением прикладной программы «Microsoft Excel 10,0».

Основные положения диссертации доложены на Всероссийской научно-практической конференции «Инновационному развитию АПК и аграрному образованию – научное обеспечение» (г. Ижевск, 2012), Международной научно-

практической конференции «Аграрная наука – инновационному развитию АПК в современных условиях» (г. Ижевск, 2013), Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение АПК. Итоги и перспективы» посвященная 70-летию ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА (г. Ижевск, 2013), Международной научно-практической конференции «Наука, инновации и образование в современном АПК» (г. Ижевск, 2014), Всероссийской научно-практической конференции «Теория и практика – устойчивому развитию агропромышленного комплекса» (г. Ижевск, 2015), Международной заочной конференции РИНЦ «Знание» (г. Харьков, Украина, 2015), Всероссийской научно-практической конференции «Научное и кадровое обеспечение АПК для производственного импортозамещения» (г. Ижевск, 2016), VII Международной научно-практической конференции «Современные проблемы развития фундаментальных и прикладных наук» (Praha, Czech Republic, 2016), Международной научно-практической конференции «Научно обоснованные технологии для интенсификации сельскохозяйственного производства» (г. Ижевск, 2017), Всероссийская научно-практическая конференция «Инновационный потенциал сельскохозяйственной науки XXI в.: вклад молодых ученых-исследователей» (г. Ижевск, 2017).

**Публикации результатов исследования.** Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 10 научных работах, из которых 4 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 2 в сборнике трудов стран ближнего и дальнего зарубежья. Издано практическое пособие «Некробактериоз крупного рогатого скота и его профилактика» для практикующих ветеринарных врачей, зоотехников и студентов по специальности «Ветеринария» и «Зоотехния», утвержденное научно-техническим советом Главного Управления Ветеринарии Удмуртской Республики.

**Объем и структура диссертации.** Текст диссертации изложен на 178 страницах компьютерного текста, содержит 31 таблицу и 67 рисунка. Состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, заключения, практических предложений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 247 источника, в том числе 60 иностранных авторов.

## **2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **2.1 Материалы и методы исследования**

Работа выполнена на кафедре инфекционных болезней и патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» и в отделе биологической безопасности ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

Отдельные этапы исследований проводились в хозяйствах ООО "Россия" и ООО "Вера" Удмуртской Республики в период с 2012 – 2016гг.

Объектом исследования явился крупный рогатый скот в количестве 1363 голов, в том числе 45 бычков в возрасте 14 – 15 месяцев и 25 нелинейных белых мышей.

Материалом для исследования служили кровь, органы и ткани животных, рубцовое содержимое, пробы фекалий, материалы отчетной документации Главного Управления Ветеринарии Удмуртской Республики, районной станции по борьбе с болезнями животных, Удмуртского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, и годовых отчетов ООО «Россия» и ООО «Вера» Удмуртской Республики.

Клинико-эпизоотологический анализ проводили согласно «Методическим указаниям по эпизоотологическому исследованию» (И.А. Бакулов, 1982) и «Методическим указаниям по комплексной диспансеризации крупного рогатого скота».

Для исследования рубцового пищеварения, отбирали содержимое рубца при помощи зонда через 2 часа после кормления. Универсальными тест-полосками измеряли рН, количество рубцовой микрофлоры исследовали в камере Горяева, подвижность – в «висячей» капле, активность – в пробе с метиленовой синью. Состояние переваримости кормов исследовали по характеру фекалий. Материал для гистологических исследований отбирали из рубца, тонкого и толстого отдела кишечника.

Иммунный ответ после введения вакцин изучали на бычках в возрасте 14 – 15 месяцев. Для исследования были сформированы 3 группы по 15 голов, по принципу аналогов: 1 группа – бычки, вакцинированные ассоциированной вакциной против некробактериоза конечностей крупного рогатого скота «Нековак», двукратно в дозе 5 мл, подкожно в область средней трети шеи, с ревакцинацией через 25 дней; 2 группа – бычки, вакцинированные формол-эмульсионной вакциной против некробактериоза. Вакцину вводили однократно в дозе 2 мл, внутримышечно в область средней трети шеи. 3 группа – контроль, животные без антигенной стимуляции.

Для оценки местной тканевой реакции проводили осмотр и пальпацию места введения у животных в первой опытной группе на 2, 3 и 7 сутки после первой иммунизации и на 2, 3 и 7 сутки после ревакцинации, у бычков во второй группе на 2, 3 и 7 сутки после аппликации антигена. Морфологические изменения в месте введения вакцин изучали на 25 нелинейных белых мышах.

Отбор крови от животных первой опытной группы проводился до вакцинации и через 7, 14, 21 сутки после первого введения вакцины, на 7, 14, 21 сутки и через 6 мес. после повторной вакцинации. Во второй опытной группе – до вакцинации и через 7, 14, 21 сутки, 2 мес. и 6 мес. после иммунизации.

Общее количество лейкоцитов определяли на анализаторе гематологическом ветеринарном BC-2800Vet (Mindery, Китай). Лейкоцитарную формулу определяли методом визуальной микроскопии фиксированных мазков после окраски по методу Романовского-Гимзы.

Состояние клеточного иммунитета определяли методом количественного подсчета Т- и В-лимфоцитов в реакции спонтанного розеткообразования. Естественную резистентность оценивали по фагоцитарной активности лейкоцитов.

Общий белок сыворотки крови измеряли рефрактометрическим методом, белковые фракции сыворотки крови – нефелометрическим методом.

Биохимические показатели сыворотки крови (общий белок, глюкозу, щелочную фосфатазу, кальций, фосфор, цинк, железо) определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Flexor E (Нидерланды) и Stat Fax 1904 plus (тест-системами Vital Diagnostix – СПб).

Антитела к *F. necrophorum* в сыворотке крови определяли в реакции агглютинации и реакции непрямой иммунофлюоресценции по общепринятой методике на базе ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

В качестве материала для морфологических и гистологических исследований у бычков отбирали пробы тимуса, селезенки, предлопаточных, средостенных, портальных лимфатических узлов. Отбор материала проводили на 7, 14, 21 сутки и 6 мес. после иммунизации животных. От мышей брали кусочки мышц с подкожной клетчаткой в месте введения вакцины на 2, 4, 7, 14, 21 сутки и 1 мес. после аппликации антигенов. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ШИК-реакции, Фельгену, метиловым зеленым-пиронином. Микрофотографическая съемка проводилась цифровой камерой Levenhuk C510. Морфометрические исследования проводили с использованием программы "Levenhuk TourView", подсчет совершали в 6 полях зрения 5 срезов с каждого объекта. Плотность расположения клеток в корковом и мозговом веществе тимуса измеряли на условной единице площади  $2500 \text{ мкм}^2$  при увеличении микроскопа в 400 раз. Количество тимусных телец, фигур митозов в герминативных центрах селезенки и предлопаточных лимфатических узлов считали в одном поле зрения при увеличении микроскопа в 400 раз. Количество вторичных лимфатических узелков и трубочек в копытцевом роге подсчитывали в одном гистологическом срезе при увеличении микроскопа в 100 раз.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы «Microsoft Excel 10,0». Достоверность оценивали по t-критерию Стьюдента.



## 2.2 Эпизоотология некробактериоза крупного рогатого скота и предрасполагающие факторы для развития болезней конечностей

### 2.2.1 Мониторинг эпизоотической ситуации по некробактериозу крупного рогатого скота в Удмуртской Республике

Удмуртская Республика стационарно неблагополучна по некробактериозу крупного рогатого скота. В 2009г. процент заболеваемости составлял 7,65% (рисунок 1).

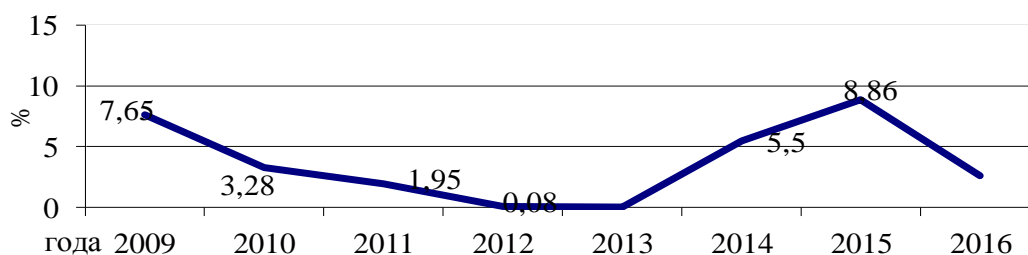


Рисунок 1 – Заболеваемость некробактериозом крупного рогатого скота за 2009 – 2016гг. по Удмуртской Республике

В дальнейшем благодаря проводимым мероприятиям по ликвидации данного заболевания все показатели снижались и достигали нулевых отметок.

С 2014г. в Республике вновь начали регистрировать больных некробактериозом животных, зарегистрирован один неблагополучный пункт и вспышка заболевания произошла из-за вновь завезенного скота. Заболеваемость к 2015г. увеличилась до 8,86%.

В основном пик регистрации больных животных приходится на 2 и 4 кварталы (2009г., 2011г., 2014г.) и 1 квартал (2010г., 2012г., 2015г.), эти периоды затрагивают середину осени, зиму и первые месяцы весны.

### 2.2.2 Эпизоотическая ситуация по некробактериозу крупного рогатого скота в ООО "Россия" Удмуртской Республики

В ООО «Россия» заболеваемость по некробактериозу в 2009 г. составила 13,3%, в этот период в хозяйстве было выявлено 239 больных животных. В связи с проведением противоэпизоотических мероприятий, направленных на ликвидацию некробактериоза процент больных животных начал снижаться и в 2010 г. составил 2,2 %, а в 2011 г. – 0,7 % (рисунок 2).

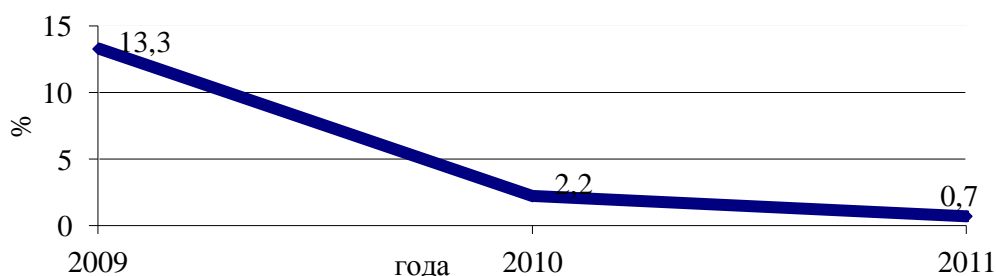


Рисунок 2 – Заболеваемость некробактериозом крупного рогатого скота в хозяйстве ООО "Россия" за 2009 – 2011 гг.

При анализе заболеваемости коров в хозяйстве по месяцам установили, что максимальный процент больных животных регистрировался в марте месяце – 14,6%. В дальнейшем данный показатель снижался, достигая минимума в августе месяце (0,4%). Второй пик заболеваемости некробактериозом был зарегистрирован в осенний период (6,7%). В зимний период заболеваемость оставалась стабильно высокой и колебалась в пределах от 10,5 до 12,1%.

### 2.2.3 Результаты ортопедической диспансеризации в хозяйствах ООО «Россия» и ООО «Вера» Удмуртской Республики

Некробактериоз относится к факторным инфекциям, толчком к развитию инфекционного процесса могут послужить неинфекционные болезни дистального отдела конечностей. Поэтому необходимо уделять внимание выбраковке крупного рогатого скота по причине заболевания дистального отдела конечностей. В Удмуртской Республике данный показатель занимает 3 место после акушерско-гинекологических болезней и маститов. Процент выбраковки по данной причине с 2011г. (13,2%) к 2014г. увеличился примерно до 15% от общего количества выбракованных животных.

В хозяйствах ООО «Россия» и ООО «Вера» процент выбраковки по причине заболеваний дистальных отделов конечностей в период 2011 – 2014гг. в первом хозяйстве составлял от 20% до 36,99%, во втором – от 13,71% – до 23,8%.

В рамках проведенной хирургической, в том числе ортопедической диспансеризации крупного рогатого скота дойного стада ООО «Вера» было обследовано 643 головы. Поражения конечностей имели 162 коровы (25%): из них с перерастяжением сухожильно-связочного аппарата – 86 голов (53%); деформацией копытцевого рога – 66 (41%); острым и подострым пододерматитом – 38 (24%); язвой венчика и свода межпальцевой щели – 3 (2%); флегмоной венчика – 5 (3%); острыми и хроническими артритами – 38 (24%).

В ООО "Россия" в ходе хирургической диспансеризации обследовано 720 голов крупного рогатого скота. Поражения дистального отдела конечностей имели 196 коров (27,2%): из них с перерастяжением сухожильно-связочного аппарата – 89 (45,4%); деформацией копытцевого рога – 99 (50,5%); острым и подострым пододерматитом – 39 (19,9%); язвой венчика и свода межпальцевой щели – 4 (2%); флегмоной венчика – 10 (5,1%); острыми и хроническими артритами – 58 коров (29,6%).

На основании проведенных нами исследований можно заключить, что у дойных коров чаще поражаются тазовые конечности. Поражения дистальных отделов конечностей имеют в среднем 25 – 27,5% животных. При этом преобладают перерастяжения сухожильно-связочного аппарата, деформации копытцевого рога и воспалительные процессы.

#### 2.2.4 Результаты гистологического исследования копытцевого рога

В ходе проведения ортопедической диспансеризации, коровы были разделены на группы с легкой, средней и тяжелой степенью поражения дистального отдела конечностей. При гистологическом исследовании поперечных срезов копытцевого рога, при легкой степени роговые трубочки в поперечном сечении имели овально-округлую форму и толстые стенки с участками истончения, их диаметр составлял  $30,90 \pm 1,33$  мкм, что в 1,5 раза меньше по сравнению с животными без клинических признаков поражения копытец ( $45,60 \pm 1,25$  мкм). В одном поле зрения микроскопа трубочек насчитывалось  $39 \pm 5$  штук, а у клинически здоровых коров  $44 \pm 3$  штук. Межтрубчатое вещество имело плотную волокнистую структуру (рисунок 3).

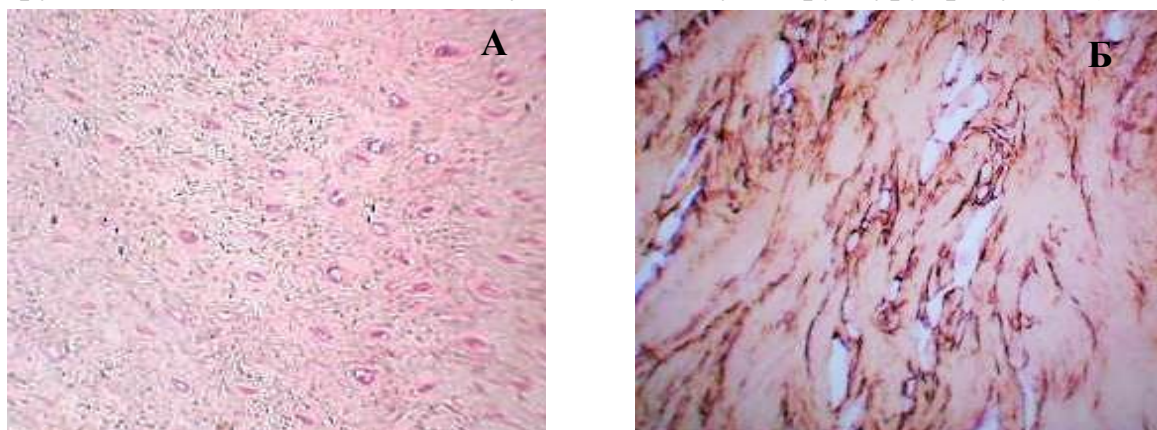


Рисунок 3 – Трубчатый рог центральных срезов дорсальной стенки копытец при легкой (А) и тяжелой (Б) степени поражения. Окраска гематоксилином и эозином. х 100

При средней степени поражения поперечный диаметр трубочек составлял  $67 \pm 0,14$  мкм, и их насчитывалось в одном поле зрения  $6 \pm 2$  штук, что в 6,5 раза меньше

по сравнению с коровами с легкой степени поражения копытцев. При этом поперечный срез трубочек имел утонченные стенки и округлую форму.

В копытцевом роге тяжелобольных коров обнаруживали беспорядочное расположение трубочек, в одном поле зрения их количество составляло  $4 \pm 2$  штук, они имели овальное сечение с диаметром  $65,37 \pm 1,28$  мкм. Стенки роговых трубочек были истончены, деформированы и разрушены. Структура межтрубоччатого вещества выглядела разволокненной.

## **2.2.5 Причины и факторы, способствующие поражению дистального отдела конечностей крупного рогатого скота**

### **2.2.5.1 Влияние особенностей природно-климатической зоны и условий содержания на развитие болезней дистального отдела конечностей**

Природно-климатические условия могут оказывать существенное влияние на развитие болезней опорно-двигательного аппарата у крупного рогатого скота. Например, рост числа вновь заболевших некробактериозом животных в 2011г. может быть связан с высокой влажностью в этот период, так в июне выпало 108,1мм осадков при норме 78мм.

Заболееваемости некробактериозом в 4 квартале 2014г. способствовала высокая влажность, в октябре выпало 114,3мм осадков (климатическая норма 62мм), и понижение температуры ниже климатической нормы на  $2,7^{\circ}\text{C}$  и составляла в среднем  $0^{\circ}\text{C}$ .

В 2016г. природно-климатические условия были благоприятны для заражения коров некробактериозом, так в феврале средняя температура была  $-3,6^{\circ}\text{C}$ , что на  $8^{\circ}\text{C}$  выше климатической нормы ( $-11,6^{\circ}\text{C}$ ), при этом осадков выпало на 155% больше и составила 49,7 мм (норма 32мм). В марте температура оставалась выше на  $2,4^{\circ}\text{C}$  ( $-2,6^{\circ}\text{C}$ ), по сравнению с климатической нормой  $-5^{\circ}\text{C}$ , осадков выпало 39,8 мм (норма 29мм). В апреле осадков выпало на 121% больше и составило 48,5мм (норма 40мм), а в сентябре данный показатель составил 98,9мм, что больше нормы в 143 раза.

Нарушение правил ветеринарно-санитарного содержания животных так же является одной из причин развития болезней дистального отдела конечностей, в том числе и некробактериоза. Так, при осмотре животноводческих помещений установлена повышенная влажность (конденсат на стенах, балках, трубах), несвоевременное удаление навоза, отсутствие подстилки.

Таким образом, росту числа больных животных способствует высокая влажность, вызванная обильными осадками и несоблюдение ветеринарно-санитарных правил содержания животных, что способствовало мацерации и разрыхлению копытцевого рога у коров.

### **2.2.5.2 Влияние кормления на развитие болезней дистального отдела конечностей, в том числе некробактериоза**

Одним из факторов, который предрасполагает к развитию патологии дистального отдела конечностей у коров, является кормление животных.

При анализе рациона кормления дойного стада в ООО "Россия" установлено, что тип кормления силосно-концентратный. На долю грубых кормов приходится только 8,7%. Преобладание кислых кормов и концентратов приводит к развитию ацидоза рубца. Что подтверждается исследованиями рубцового содержимого коров в период раздоя, рН рубца смещалась в кислую сторону и составила 5 – 5,5. Процент активных инфузорий варьировал от 30 до 50%.

В кормах отмечено низкое содержание кальция и фосфора и нарушение их соотношения, что указывает на недостаточное поступление данных элементов в организм, и влияет на формирование копытного рога низкого качества.

У животных с поражением дистального отдела конечностей средней и тяжелой степени тяжести определяли признаки подострого и хронического поверхностного и диффузного атрофического энтерита, а так же диффузного хронического колита с признаками метаплазии эпителия кишечных желез и десквамацией каемчатого эпителия ворсинок. При этом нарушаются процессы переваривания корма и усвоения питательных веществ, что в свою очередь оказывает отрицательное влияние на формирование копытного рога.

### **2.2.5.3 Влияние нарушения обмена веществ на развитие болезней дистального отдела конечностей**

Болезни дистального отдела конечностей, в том числе и некробактериоз, развиваются на фоне нарушения обмена веществ в организме. При анализе биохимических показателей сыворотки крови у коров с поражениями дистального отдела конечностей выявляли, что уровень Са и Р составлял  $1,7 \pm 0,29$  ммоль/л и  $1,28 \pm 0,5$  ммоль/л что ниже показателей здоровых животных в 1,5 раза и в 1,3 раза соответственно. Так же нарушалось соотношение кальция и фосфора в сыворотке крови, которое составляло 1,32:1. Содержание цинка в сыворотке крови у коров с поражениями дистальных отделов конечностей было в 2,4 раза ниже относительно аналогичного показателя здоровых животных, и составляло  $8,35 \pm 3,25$  мкмоль/л.

Таким образом, у животных с поражением тканей дистального отдела конечностей выявлены значительные изменения в минеральном составе крови, а именно: выраженная гипофосфатемия, гипокальциемия и гипоцинкемия.

### 2.3 Гематологические, биохимические и серологические показатели крови и сыворотки крови после вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота

Специфическая профилактика некробактериоза направлена на создание напряженного иммунного ответа, что способствует защите восприимчивых животных от заражения. По результатам исследования установлено, что при использовании ассоциированной вакцины «Нековак» общее увеличение количества лейкоцитов происходило на 7 сутки после вакцинации до  $12,93 \pm 1,88 \cdot 10^9/\text{л}$ , в основном за счет увеличения содержания лимфоцитов  $9,11 \pm 1,19 \cdot 10^9/\text{л}$ . При повторном введении антигена данные показатели на 7 сутки превышали контрольные и достигали уровня  $10,43 \pm 1,67 \cdot 10^9/\text{л}$  и  $7,27 \pm 1,2 \cdot 10^9/\text{л}$  соответственно (рисунок 4).

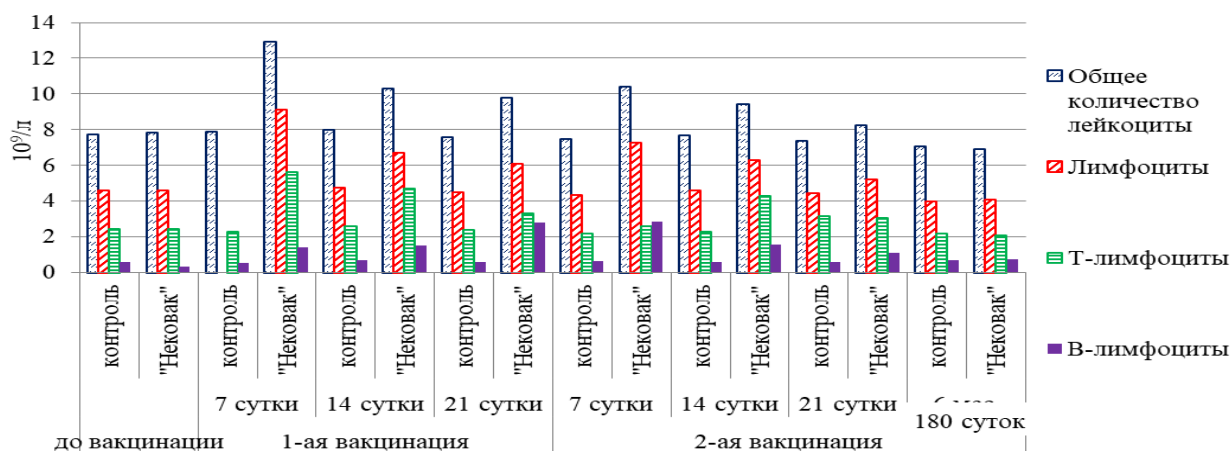


Рисунок 4 – Динамика содержания лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов после вакцинации вакциной «Нековак»

Изучение субпопуляций лимфоцитов показало увеличение количества T-лимфоцитов на 7 сутки после иммунной стимуляции ( $5,65 \pm 0,92 \cdot 10^9/\text{л}$ ), а после ревакцинации на 14 сутки ( $4,27 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Уровень B-лимфоцитов при этом возрастал на 21 сутки после вакцинации ( $2,8 \pm 0,17 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Однако после ревакцинации динамики роста не наблюдали, напротив, отмечали постепенное снижение количества B-лимфоцитов.

При определении уровня фагоцитоза, было отмечено, что количество активных нейтрофилов после первой вакцинации возросло и достигало максимума к 14 суткам до  $64,75 \pm 1,11\%$ . После ревакцинации уровень фагоцитарной активности к 14 суткам вновь повышался и составил  $67 \pm 1,53\%$ .

При биохимическом исследовании сыворотки крови уровень  $\gamma$ -глобулинов достигал максимума на 21 сутки ( $37,17 \pm 1,64 \%$ ) и превышал контрольные показатели в 1,9 раза. При этом происходит рост титра специфических антител, уровень которых достигал максимума к 21 суткам после первой вакцинации и составил

1:1280. К 7 суткам после ревакцинации титры антител также оставались высокими (1:1280), однако к 21 суткам после ревакцинации уровень антител снижался до 1:830 (рисунок 5).

При исследовании крови бычков привитых ФЭВ на 7 стуки отмечали увеличение содержания лейкоцитов в крови, преимущественно за счет лимфоцитов ( $10 \pm 0,4 \cdot 10^9/\text{л}$  и  $7,02 \pm 1,24 \cdot 10^9/\text{л}$  соответственно). Количество Т-лимфоцитов ( $4,73 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ ) возрастает к 14 суткам и В-лимфоцитов ( $2,21 \pm 0,27 \cdot 10^9/\text{л}$ ) к 21 суткам (рисунок 6).



Рисунок 5 – Уровень специфических антител в сыворотке крови бычков после вакцинации ассоциированной вакциной «Нековак»

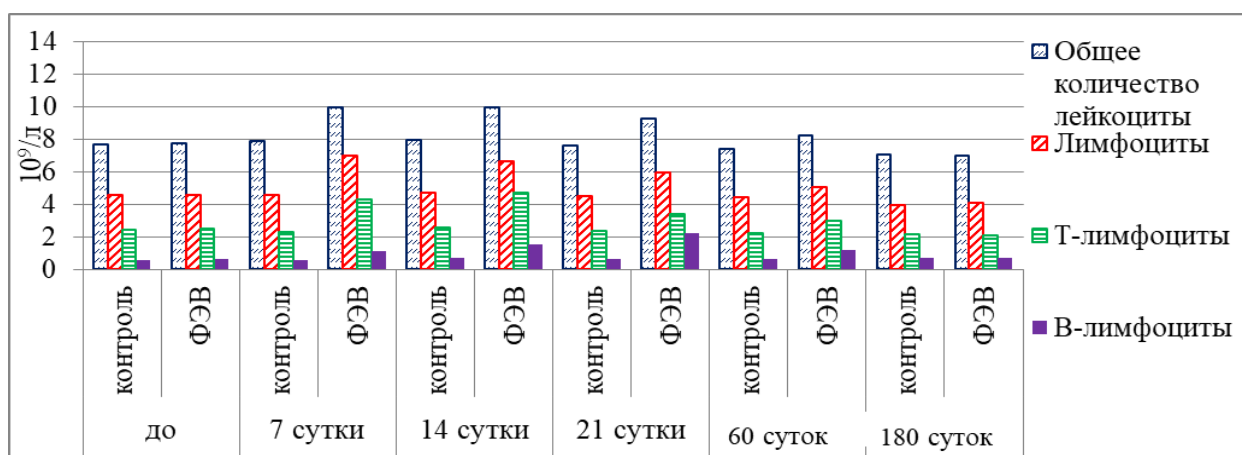


Рисунок 6 – Динамика содержания лейкоцитов и субпопуляций лимфоцитов после вакцинации формол-эмульсионной вакциной

Фагоцитарная активность нейтрофилов достигала максимума к 14 суткам  $65 \pm 1,3\%$  (контроль  $47,5 \pm 1,55\%$ ), что выше контроля в 1,4 раза. В дальнейшем происходило постепенное снижение данного показателя до уровня контрольной группы к 6 месяцам.

Однократное введение вакцины обеспечивало повышение уровня  $\gamma$ -глобулинов к 21 суткам ( $36,76 \pm 0,85\%$ ) и уровня агглютинирующих антител в титре 1:960 (рисунок 7). В дальнейшем уровень  $\gamma$ -глобулинов и специфических антител



имели тенденцию к снижению и через 6 месяцев после вакцинации достигали показателей контрольной группы.

Таким образом, установлено, что вакцина «Нековак» и формол-эмульсионная вакцина стимулируют процесс формирования как неспецифического, так и специфического иммунного ответа. При ревакцинации ассоциированной вакциной «Нековак» не наблюдается ожидаемого увеличения уровня специфических антител, что свидетельствует о блокировании гуморального звена иммунитета повторным введением вакцины, либо повышенной элиминацией антител из кровотока.

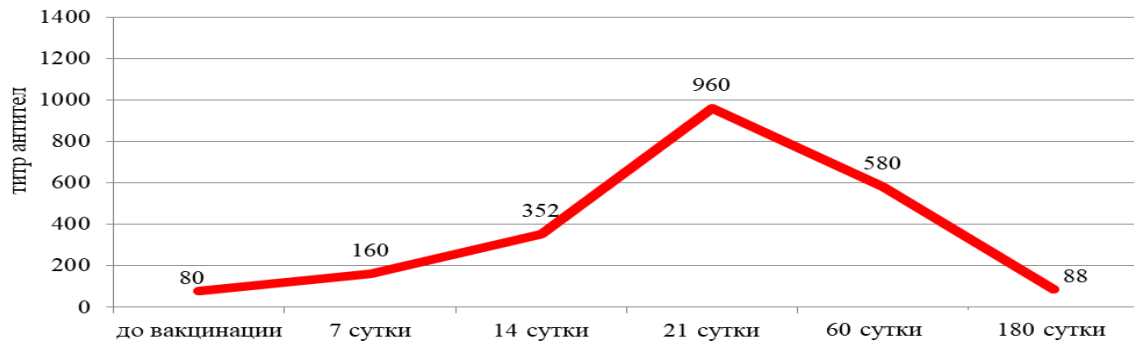


Рисунок 7 – Уровень специфических антител в сыворотке крови бычков после вакцинации формол-эмульсионной вакциной

## **2.4 Морфологические и иммуноморфологические изменения в органах и тканях животных при вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота**

### **2.4.1 Местная тканевая реакция организма на введение вакцины против некробактериоза крупного рогатого скота**

При гистологическом исследовании окружающих тканей на месте введения вакцины «Нековак» на 7 суток отмечали инфильтрацию преимущественно лимфоцитами. К 14 и 21 суткам – инфильтрация клетками гистиоцитарного ряда.

При введении формол-эмульсионной вакцины на 7 суток определяли образование полости рыхло заполненной клетками лейкоцитарного ряда с преобладанием нейтрофильных гранулоцитов, что указывает на развитие воспалительного процесса на месте введения, это реакция на масляный адъювант, входящий в состав вакцины. На 21 сутки отмечали инфильтрацию клетками гистиоцитарного ряда.

### **2.4.2 Местная тканевая реакция и иммуноморфологические изменения в органах у бычков после введения вакцины против некробактериоза крупного рогатого скота**

У бычков на месте введения вакцин впервые 2 – 3 дня отмечали наличие припухлости. В первой группе животных, которым вводили вакцину «Нековак», ее



диаметр достигал  $1,68 \pm 0,25$  см. У бычков второй опытной группы привитых ФЭВ диаметр припухлости составлял  $1,9 \pm 1,18$  см. На 7 сутки в группе иммунизированной ассоциированной вакциной при клиническом осмотре изменений в месте введения не отмечалось. При пальпации места введения у бычков, вакцинированных ФЭВ, обнаруживали уплотнение. После повторного введения вакцины «Нековак» на 2 сутки наблюдали припухание кожных покровов диаметром  $2,29 \pm 0,31$  см., через 7 суток после повторной иммунизации признаков тканевой реакции не выявлено.

На основании проведенных исследований можно заключить, что у бычков в обеих исследуемых группах на месте введения вакцин тканевая реакция проявлялась в виде припухания. В первой опытной группе при ревакцинации диаметр припухлости был больше в 1,36 раза, чем при ее первичном введении, что объясняется сенсибилизацией организма.

#### 2.4.2.1 Иммуноморфологические изменения в тимусе бычков после вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота

При иммунизации вакциной было выявлено уменьшение площади корковой зоны на 14 – 21 сутки по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об активной миграции лимфоцитов за пределы органа (рисунок 8).

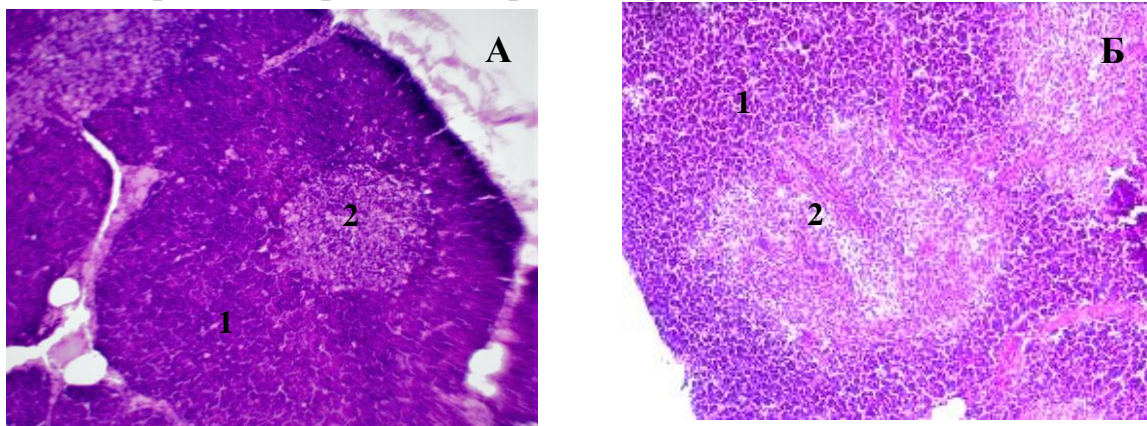


Рисунок 8 – Тимус 7 сутки (А) и на 21 сутки (Б) после вакцинации ассоциированной вакциной «Нековак»: 1 – корковая, 2 – мозговая зоны. Окраска гематоксилином и эозином. х 100

Наряду с этим, у бычков привитых ассоциированной вакциной было выявлено увеличение плотности лимфоцитов в корковом и мозговом веществе в период с 7 по 14 сутки исследования. Наблюдали увеличение количества тимусных телец с 7 по 14 сутки.

При вакцинации ФЭВ площадь коркового вещества имела максимальные значения на 7 сутки, а затем уменьшалась к 21 суткам (рисунок 9). Плотность клеточного состава имела тенденцию к снижению в корковой зоне в течение всего перио-

да исследования. Плотность лимфоцитов в мозговом веществе увеличивалась к 14 суткам, а затем снижалась.

ШИК реакция в обеих опытных группах была хорошо выражена в эпителиальных элементах и ретикулярной строме медуллы, а также междольковой соединительной ткани и макрофагах коры на 7 сутки после вакцинации совместно с признаками активизации сосудистого русла. Таким образом, можно отметить, что вакцинация ФЭВ, по сравнению с введением ассоциированной вакцины «Нековак», оказывает выраженное иммуностимулирующее воздействие на корковую зону тимуса, что обуславливается различным их составом

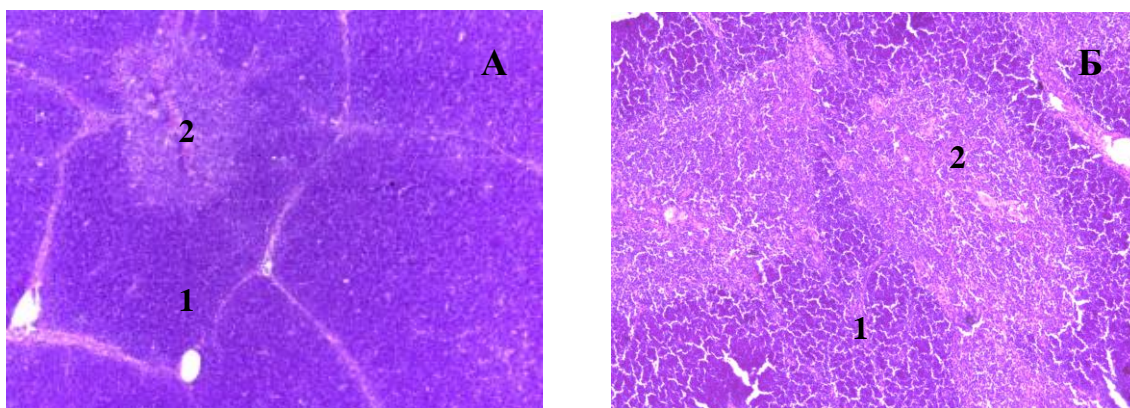


Рисунок 9 – Тимус 7 суток (А) и на 21 сутки (Б) после вакцинации формол-эмульсионной вакциной: 1 – корковая, 2 – мозговая зоны. Окраска гематоксилином и эозином. х. 100

#### 2.4.2.2 Иммуноморфологические изменения в селезенке после вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота

В селезенке до 7 суток после вакцинации определяли признаки сосудистых реакций. Увеличение размеров лимфоидных узелков по сравнению с контролем в 1,7 («Нековак») и в 1,3 (ФЭВ) раза. Увеличивались размеры герминативных центров белой пульпы в 2 и 1,6 раза соответственно с преобладанием активных макрофагов, в обеих опытных группах. Определялась высокая митотическая активность до  $10,5 \pm 1,55$  митозов в одном поле зрения, при иммунной стимуляции ассоциированной вакциной, и  $11,75 \pm 2,59$  митозов, при вакцинации ФЭВ. Это свидетельствует о признаках трансформации лимфоцитов в этих зонах. Т-клеточная зона наиболее была активна в группе бычков привитых ФЭВ, и составила  $85,06 \pm 18,5$  мкм, что превышало контроль на 69,18 мкм и показатели группы привитой ассоциированной вакциной на 56,4 мкм.

В последующие сроки исследования (14 и 21 сутки) диаметры лимфоидных фолликулов и герминативных центров в селезенке животных иммунизированных

ФЭВ превышали показатели контроля и другой опытной группы. Данные показатели достигали максимального уровня на 14 сутки наблюдений.

Активация В-зависимых зон имела тенденцию к постепенному нарастанию размеров белой пульпы и плотности лимфоцитов с увеличением количества плазмочитарных элементов с 7 по 21 сутки исследования в обеих опытных группах

#### 2.4.2.3 Иммуноморфологические изменения в лимфатических узлах после вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота

В предлопаточных лимфатических узлах в обеих опытных группах с 7 суток после иммунной стимуляции постепенно увеличивалось количество вторичных фолликулов и их размеры. Клеточный состав был представлен малодифференцированными бластными клетками, большими, средними и малыми лимфоцитами, ретикулярными клетками и макрофагами, содержащими фагоцитированный материал.

Количество вторичных лимфоидных фолликулов достигало максимума на 14 сутки в обеих опытных группах и составило  $16,8 \pm 1,71$  («Нековак») и  $15,67 \pm 1,41$  (ФЭВ). Корона узелка выглядела в виде ободка плотно заполненного лимфоцитами (рисунок 12). Центр размножения содержал активные макрофаги, дендритные клетки и лимфоциты на разных стадиях дифференцировки.

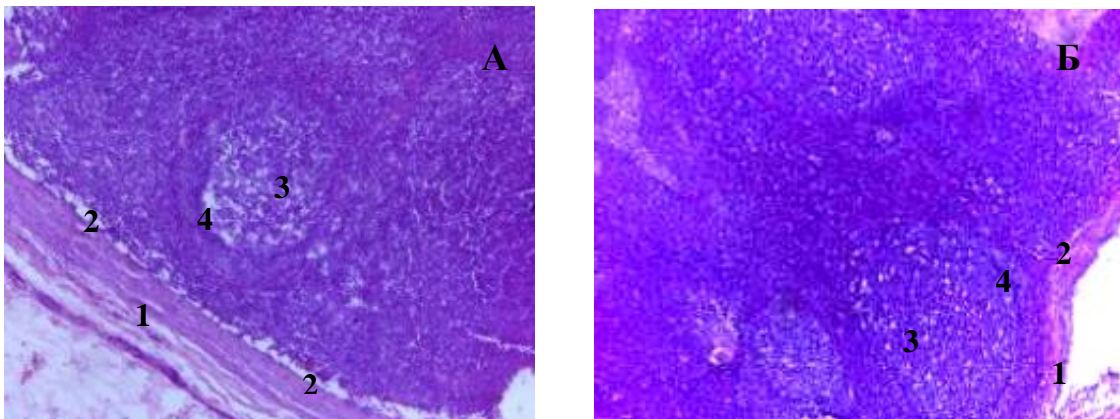


Рисунок 12 – Предлопаточный лимфатический узел на 14 сутки после вакцинации ассоциированной вакциной «Нековак» (А) и формол-эмульсионной вакциной (Б): 1 – капсула; 2 – краевой синус; 3 – вторичный лимфатический узелок; 4 – корона узелка. Окраска гематоксилином и эозином. x 100.

Митотическая активность превышала показатели контрольной группы и составляла  $14 \pm 3,06$  митозов («Нековак») и  $9,25 \pm 0,95$  митозов (ФЭВ). Краевые синусы заполнены лимфоцитами, его ширина в группе привитой ФЭВ была выше и составила  $39,43 \pm 1,73$  мкм, а группе бычков вакцинированных ассоциированной вакциной –  $29,36 \pm 3,55$  мкм.



На 14 сутки после иммунной стимуляции мозговая зона была представлена рыхло расположенными лимфоцитами, плазмобластами и плазмоцитами. Некоторые мозговые синусы были полузапустевшими, содержали плазмобласты и плазмоциты, их ширина увеличивалась по сравнению с контролем до  $25,94 \pm 4,63$  мкм («Нековак»). В опытной группе животных привитых ФЭВ ширина мозговых синусов составила  $25,70 \pm 2,1$  мкм, и они были плотно заполнены лимфоцитами (рисунок 13).

На 21 сутки после иммунной стимуляции в обеих опытных группах в корковом веществе отмечали уменьшение количества и диаметра вторичных лимфатических узелков и их герминативных центров. У животных, привитых вакциной «Нековак», на 21 сутки уменьшается плотность лимфоцитов в корковом и мозговом веществе с запускованием краевых и мозговых синусов, ширина которых увеличивалась до  $39,71 \pm 2,04$  мкм и  $29,72 \pm 1,93$  мкм соответственно, что может свидетельствовать о чрезмерной нагрузке на лимфоидную ткань.

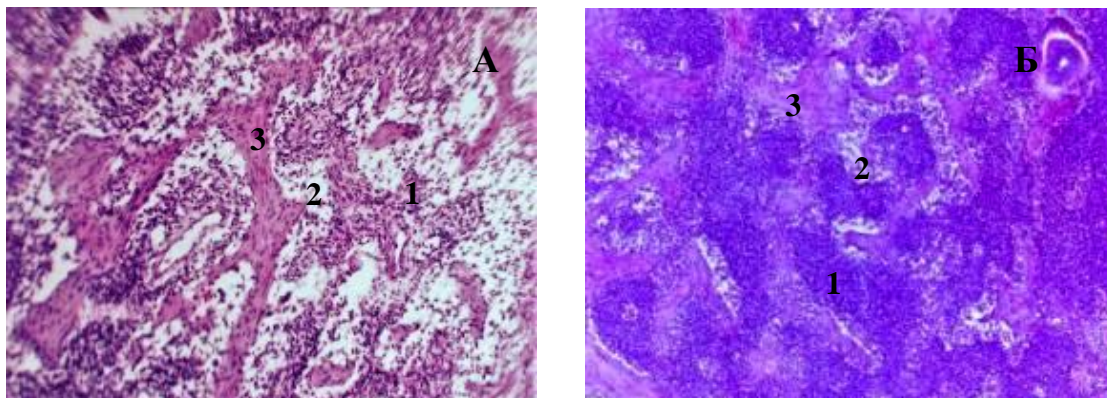


Рисунок 13– Мозговое вещество предлопаточного лимфатического узла на 14 сутки после вакцинации ассоциированной вакциной «Нековак» (А) и формол-эмульсионной вакциной (Б): 1 – мозговой тяж; 2 – мозговой синус; 3 – трабекулы. Окраска гематоксилином и эозином. х 100

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Максимальные показатели заболеваемости некробактериозом крупного рогатого скота в Удмуртской Республике определялись в 2009г. – 7,65% и в 2015г. – 8,86%.
2. Патология дистального отдела конечностей в Удмуртской Республике занимает третье место среди болезней крупного рогатого скота с процентом выбраковки от 13,2 до 15%. Поражения опорно-двигательного аппарата имеют в среднем 25 – 27,5% животных. При этом преобладают перерастяжение сухожильно-связочного аппарата, деформация копытцевого рога и хронические воспалительные процессы.

3. Установлена прямая корреляционная связь заболеваемости некробактериозом с природно-климатическими условиями Удмуртской Республики. Использование недоброкачественных с низкой питательной ценностью кормов с преобладанием силоса и концентратов приводит к нарушению рубцового пищеварения, подострому или хроническому энтерокоlitу, что способствует нарушению обмена веществ и, как следствие, развитию поражения дистальных отделов конечностей у крупного рогатого скота разной степени тяжести.

4. Максимальный уровень Т-лимфоцитов после вакцинации ФЭВ отмечали на 14 сутки, после вакцинации ассоциированной вакциной – на 7 сутки Абсолютное количество В-лимфоцитов в обеих группах возрастало на 21 сутки. Однако после ревакцинации ассоциированной вакциной отмечали снижение количества В-лимфоцитов с 7 по 21 сутки, что могло свидетельствовать о нарушении дифференцировки клеток. У бычков, вакцинированных ФЭВ сероконверсия наступала к 21 суткам после вакцинации с последующим падением титра к 180 суткам. У бычков, вакцинированных «Нековак», падение титра антител начиналось с 21 суток после ревакцинации и продолжалось до 180 суток.

5. По данным морфологических исследований обе вакцины обладали выраженной иммуногенностью. В органах иммуногенеза определяли признаки пролиферации лимфоидного ростка кроветворения с 7 по 21 сутки после вакцинации. При двукратном использовании ассоциированной вакцины «Нековак» отмечали признаки истощения лимфоидной ткани тимуса и регионарных мест введения вакцины лимфоузлов. ФЭВ обладала более выраженной местной и общей реактогенностью.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. На основании полученных результатов исследований разработано и внедрено в практику практическое пособие по профилактике болезней дистальных отделов конечностей у крупного рогатого скота для практикующих ветеринарных врачей, зоотехников и студентов по специальности «Ветеринария» и «Зоотехния».

2. Результаты гематологических, биохимических, серологических, иммунологических и иммуноморфологических исследований могут быть использованы для комплексной оценки иммунных процессов у крупного рогатого скота после вакцинации против некробактериоза и для совершенствования методов иммунологического контроля вакцинных препаратов.

3. При выборе вакцины для специфической профилактики необходимо учитывать состояние обмена веществ поголовья крупного рогатого скота, так для полноценного специфического и неспецифического иммунного ответа необходимы все

ресурсы организма животного, что напрямую зависит от полноценного рациона питания и надлежащих условий содержания.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Бабинцева, Т.В. Особенности эпизоотической ситуации по некробактериозу в Удмуртской Республике / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева // Научное обеспечение АПК: итоги и перспективы: материалы Международной науч.-практ. конф., посв. 70-летию ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА. - 2013. - Т.1. - С. 148-151.
2. Михеева, Е.А. Влияние нарушения обмена веществ на заболеваемость дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота / Е.А. Михеева, Л.Ф. Хамитова, Л.А. Перевозчиков, Т.В. Бабинцева, С.С. Зорина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2013. - Т. 214. - С. 293-297\*.
3. Бабинцева, Т.В. Влияние состояния органов пищеварения на заболеваемость копытцев крупного рогатого скота / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева // Наука, инновации и образование в современном АПК: материалы Международной науч.-практ. конф. - 2014. - Т. 3. - С. 72-74.
4. Бурдов, Г.Н. Состояние обмена веществ, органов пищеварения, репродуктивной системы и дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота в Удмуртской Республике / Г.Н. Бурдов, Е.А. Михеева, Л.А. Перевозчиков, Л.Ф. Хамитова, Т.В. Бабинцева // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. - 2015. - № 3 (36). - С. 82-89.\*
5. Бабинцева, Т.В. Показатели иммунного ответа у бычков при вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева, Х.Н. Макаев // Вестник Казанского государственного аграрного университета. - 2015. - № 3. - С. 93-97.\*
6. Бабинцева, Т.В. Местная тканевая реакция организма на введение вакцины против некробактериоза крупного рогатого скота у мышей / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева // В сборнике: Современные проблемы развития фундаментальных и прикладных наук. Материалы VII международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 3-6.
7. Бабинцева, Т.В. Иммуноморфологические изменения селезенки после вакцинации бычков против некробактериоза / Т.В. Бабинцева // Знание. - 2017. - № 3-1 (43). - С. 30-33.
8. Бабинцева, Т.В. Иммуноморфологические изменения в лимфатических узлах при вакцинации бычков против некробактериоза / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева, Х.Н. Макаев, И.Н. Залялов // Ветеринарный врач. - 2017. - №2. - С. 7-15.\*

9. Бабинцева, Т.В. Результаты ортопедической диспансеризации коров в хозяйствах Удмуртской Республики / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева // «Научно обоснованные технологии для интенсификации сельскохозяйственного производства» : материалы Международной науч.-прак. конф. - 2017. - Т.3. - С. 6-8.

10. Бабинцева, Т.В. Влияние нарушения кормления на состояние копытцевого рога крупного рогатого скота / Т.В. Бабинцева, Е.А. Михеева, С.С. Новикова // «Инновационный потенциал сельскохозяйственной науки XXI в.: вклад молодых ученых-исследователей»: материалы Всероссийской науч.-прак. конф. - 2017. - С.87-88.

Примечание: \*- публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованные ВАК РФ.