

ввиду малой токсичности и хороших дезинфицирующих свойств вполне может быть рекомендован для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений, в том числе санации воздуха в присутствии животных (птиц).

Литература. 1. Банников, В. Вироцид в промышленном птицеводстве / В. Банников // Птицеводство. – 2006. - № 10. – С.44-45. 2. Боченин, Ю.И. Аэрозоли в профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных / Ю.И. Боченин [и др.] // Ветеринарный консультант. - 2004. - №23-24. - С. 10-18. 3. Ветеринарная санитария: учебное пособие для студентов по специальности «Ветеринария», «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и «Товароведение и экспертиза товаров» с.-х. вузов / А.А. Сидорчук [и др.]. – СПб.: Издательство «Лань», 2011. – 386 с.: ил. 4. Высоцкий, А.Э. Бицидная активность и токсикологическая характеристика дезинфицирующего препарата САНДИМ-Д / А.Э. Высоцкий // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 2.- С.27-30. 5. Высоцкий, А.Э. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих препаратов в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, С.А. Иванов // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 1.- С.46-48. 6. Готовский, Д.Г. К вопросу о сравнительной эффективности аэрозолей некоторых дезинфектантов / Д.Г. Готовский // Птицеводство Беларуси. - № 1. – 2006. – С. 28-32. 7. Шкарин, В.В. Дезинфекция, Дезинсекция и дератизация: руководство для студентов медицинских вузов и врачей / В.В. Шкарин. – Н. Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. – 580 с. 8. Клёнова, И.Ф. Ветеринарные препараты России: Справочник в 2 томах. Т.1. / И.Ф. Клёнова [и др.]. – М.: Сельхозиздат, 2004. - С. 419-453. 9. Bill, G. Exposure to Glutaraldehyde Alone or in a Fume Mix: a Review of 26 cases / G. Bill // Journal of the NZMRT. - Volume 40. - No 2. - June, 1997. - P.13-17.

Статья передана в печать 21.02.2012 г.

УДК 619:616.98:579.842. 14:615.373

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОНТРОЛЯ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ, ПОРОСЯТ И ПТИЦ

Даровских С.В., Ходр Мунзер, Медведев А.П.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Разработан метод контроля активности сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллеза телят, поросят и птиц.

Developed a method for controlling the activity of a polyvalent serum antitoxic against salmonellosis in calves, pigs and birds.

Введение. Сальмонеллез – инфекционная болезнь многих видов сельскохозяйственных животных, пушных зверей, птиц, которая характеризуется при остром течении лихорадкой, расстройством деятельности желудочно-кишечного тракта, токсикозом, а при подостром и хроническом – поражением легких и суставов. Чаще всего болеют молодые животные, у взрослых инфекция протекает бессимптомно, а у самок может проявляться абортными. Не исключена возможность инфицирования человека сальмонеллами при употреблении продуктов животноводства, обсемененных вирулентными бактериями. Болезнь у человека протекает в виде токсикоинфекции.

Для активной профилактики сальмонеллеза УП «Витебская биофабрика» выпускает вакцину, ассоциированную против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней, вакцину формолквасцовую против сальмонеллеза телят, вакцину против сальмонеллеза поросят, вакцину живую сухую поливалентную против сальмонеллеза поросят, вакцину сухую против сальмонеллеза свиней из штамма ТС – 177.

Для пассивной профилактики болезни и лечения животных биопредприятие производит следующие гипериммунные сыворотки:

- сыворотку поливалентную антитоксическую против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц;
- сыворотку поливалентную антитоксическую против сальмонеллеза телят, поросят и птиц.

Профилактическая и лечебная эффективность упомянутых гипериммунных сывороток зависит от соответствия серовариантного состава возбудителей сальмонеллеза, циркулирующих среди животных, набору специфических антител в препаратах, изготавливаемых биофабрикой. С учетом этого обстоятельства и в результате исследовательской работы нами в состав антигена для гипериммунизации волов-производителей сыворотки против сальмонеллеза телят, поросят и птиц была введена инактивированная культура *S. Enteritidis* CB. Бактерии этого серовара вызывают у животных сальмонеллез в 8% случаев.

В настоящее время фабрика готовит сыворотку, содержащую не только антитела против *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, но и против *S. enteritidis* CB.

Важнейшим показателем качества сыворотки является ее активность, которую определяют в остром опыте в отношении *S. choleraesuis* на голубях, в отношении *S. dublin*, *S. typhimurium* и *S. enteritidis* CB – на морских свинках. Голубям сыворотку вводят внутримышечно в дозах 0,5 и 1 см³, используя на дозу трех голубей. Морским свинкам сыворотку вводят подкожно в дозах 0,25; 0,75 и 1 см³. Каждой дозой препарата иммунизируют по три свинки. Затем, через 24 часа после введения сыворотки, голубей и морских свинок заражают смертельной дозой сальмонелл соответствующего сероварианта. Одновременно заражают трех голубей, не получивших препарат, и по три морские свинки (контроль) каждым сероваром сальмонелл.

Сыворотку считают активной при выживании не менее 4-х голубей из 6- взятых в опыт и не менее 4-х морских свинок из 6-и, иммунизированных препаратом, при гибели не менее 2-х из 3-х контрольных голубей и не менее 2-х из 3-х морских свинок в контроле, зараженных вирулентной культурой каждого сероварианта сальмонелл. Такой метод контроля активности сыворотки регламентирован нормативно-технической документацией на препарат. Однако этот способ контроля иммуногенности препарата имеет некоторые недостатки. Известно, что

при использовании для оценки активности любого биопрепарата трех-шести лабораторных животных невозможно достоверно судить о его иммуногенности, даже при выживании всех животных, получивших препарат, и гибели всех контрольных. Даже в этом случае вероятность достоверности контроля активности не превышает 50-70%. Используемые в остром опыте голуби и морские свинки довольно устойчивы к сальмонеллам. Для голубей минимальная смертельная доза составляет 1,5-2 млрд. м.к., а для морских свинок – 4,5 млрд. м.к. Голуби и морские свинки могут обладать естественно приобретенной устойчивостью к сальмонеллам. Самыми широко применяемыми лабораторными животными при контроле качества различных видов биопрепаратов являются белые мыши. Их воспроизводство и содержание менее затратно, чем других лабораторных животных. К тому же мыши исключительно чувствительны к сальмонеллам.

Исходя из вышеотмеченного, целью наших экспериментов явилась разработка приемлемого для сыровоточного производства метода контроля активности сывотки против сальмонеллеза телят, поросят и птиц.

Материалы и методы исследований. В работе были использованы контрольные штаммы сальмонелл: *S. choleraesuis* 370, *S. dublin* 373, *S. typhimurium* 371, *S. enteritidis* CB. Штаммы бактерий поддерживали на полужидком агаре в запаянных пипетках. За двое суток до заражения белых мышей пипетки вскрывали, делали высевы из них в мясопептонный бульон и выращивали в нем сальмонелл в течение 18-20 часов. Затем из бульона культуры бактерий пересевали на скошенный мясопептонный агар в пробирках, которые помещали в термостат на 18-20 часов для получения агаровой культуры. С агара культуры смывали стерильным физиологическим раствором, устанавливали концентрацию для *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium* и *S. enteritidis* CB – 10000, 1000, 100 и 10 микробных клеток в 1 см³. Культуры из каждого разведения вводили внутривентриально по 0,5 см³ 4-5 мышам массой 18-20 г.

Вирулентность сальмонелл рассчитывали по формуле Кербера в модификации Ашмарина:

$$ИД_{50} = \lg D - \delta (\sum Li - 0,5), \text{ где}$$

D – максимальная из испытанных доз;

δ – логарифм числа разведения;

Li – отношение числа животных, давших эффект при введении данной дозы, к общему числу животных, которым эта доза введена;

$\sum Li$ – сумма значений Li , найденных для всех испытанных доз.

Для определения ИД₅₀ сывотки мышей иммунизировали ею, начиная с дозы 0,5 см³, с последующим шагом разведения, кратным 3,4 и 5, при постоянном объеме вводимого препарата. Заражение иммунизированных и контрольных мышей проводили 2 ЛД₅₀ сальмонелл соответствующего серотипа. ИД₅₀ сывотки для белых мышей рассчитывали также по формуле Кербера в модификации Ашмарина.

Агглютинирующую активность сывотки определяли в реакции агглютинации (РА), которую ставили классическим пробирочным методом. Сывотку развели физиологическим раствором, начиная с разведения 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 и т.д. до титра. В качестве антигена использовали живые культуры сальмонелл, выращенные на мясопептонном агаре в пробирках. Реакцию ставили в объеме 1 см³ и учитывали визуально по степени прояснения жидкости и выраженности осадка, оценивая ее в плюсах.

Результаты исследований. Мы определили, что ЛД₅₀ *S. enteritidis* CB составила для мышей 30, *S. dublin*, *S. typhimurium* 25 млн., *S. choleraesuis* 15 млн. микробных клеток. Затем было установлено, что 2 ЛД₅₀ вызвали гибель 90-100% зараженных мышей. Кроме того, было определено, что только при 5-кратном разведении сывотки дозы ее оказались такими, в результате иммунизации которыми в остром опыте наблюдали прямую зависимость между дозой препарата и количеством оставшихся в живых мышей. Это позволило рассчитывать ИД₅₀ сывотки для белых мышей и выражать эту величину в числовых значениях.

Нами была определена агглютинирующая и превентивная активность 8 проб сывотки, отобранных от различных производственных серий. Результаты опытной работы представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Превентивная и агглютинирующая активность исследованных проб сывотки

№ пробы	ИД ₅₀ сывотки (см ³) для белых мышей в отношении				Титр антител в среднем по всем сероварам сальмонелл
	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i> CB	
1	0,015 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,010 ± 0,001	0,010 ± 0,002	1:1600
2	0,014 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,012 ± 0,001	1:3200
3	0,012 ± 0,001	0,010 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,012 ± 0,001	1:1600
4	0,012 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,010 ± 0,001	0,012 ± 0,002	1:1600
5	0,012 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,011 ± 0,001	0,011 ± 0,001	1:3200
6	0,011 ± 0,002	0,012 ± 0,001	0,011 ± 0,002	0,012 ± 0,002	1:1600
7	0,012 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,011 ± 0,001	1:1600
8	0,013 ± 0,001	0,010 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,013 ± 0,002	1:1600

Данные таблицы позволяют утверждать, что пробы сывотки, взятые из различных производственных серий, существенно не различаются по превентивной активности, а также не выявлено достоверных различий иммуногенности сывотки для белых мышей в отношении всех четырех сероваров сальмонелл. Титр агглютининов ко всем серовариантам бактерий колеблется в пределах 1:1600 – 1:3200 и коррелирует с уровнем превентивной активности для лабораторных животных. Все эти данные являются показателем одинаковой интенсивности иммунного ответа организма волов-производителей на поливалентный сальмонеллезный инактивированный антиген.

Метод определения активности сывотки по величине ИД₅₀ позволяет выразить иммуногенность препарата в числовых значениях и объективно оценивать его защитные свойства. По нашему мнению, этот метод высокодостоверен и эффективен. Однако существенными недостатками, препятствующими его внедрению в прак-

тику контроля активности сыворотки на биопредприятиях, является кропотливость и трудоемкость опытов, а также использование в них большого количества животных.

Поэтому мы решили разработать менее трудоемкий и кропотливый, но в то же время довольно объективный метод контроля активности сыворотки.

Математически доказано, что достоверность результатов контроля активности биопрепарата не ниже 95% имеет место тогда, когда иммуногенность его проверяется не менее чем на 10 животных при условии выживания 8 из 10 получивших препарат и гибели не менее 8 из 10 контрольных особей. С учетом этого положения нами была подобрана доза сыворотки, которая предохраняла от падежа в остром опыте не менее 8 иммунизированных мышей из 10 при условии гибели не менее 8 мышей из 10 контрольных животных. Такой результат был получен при подкожном введении сыворотки белым мышам в дозе 0,005 см³. Затем мы исследовали активность сыворотки 8-и проб ее, взятых от различных производственных серий, иммуногенность которых была определена для мышей и выражена в ИД₅₀ (см. табл.1) Сыворотку каждой пробы ввели подкожно белым мышам в дозе 0,005 см³, используя на дозу в отношении каждого серовара 10 мышек, которых затем одновременно с контрольными мышками заражали 2ЛД₅₀ соответствующего сероварианта вирулентных сальмонелл. Результаты этого опыта представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Превентивная активность сыворотки для белых мышей

№ проб сыворотки	Доза сыворотки (см ³)	Количество мышей на дозу	Выживаемость и падеж мышей в отношении сальмонелл							
			S.cholerae-suis		S.dublin		S.typhimurium		S.enteritidis CB	
			П	В	П	В	П	В	П	В
1	0,005	10	1	9	2	8	1	9	1	9
2	0,005	10	2	8	1	9	2	8	2	8
3	0,005	10	1	9	1	9	2	8	1	8
4	0,005	10	2	8	2	8	1	9	1	9
5	0,005	10	1	9	1	9	2	8	2	8
6	0,005	10	2	8	1	9	1	9	1	9
7	0,005	10	2	8	2	8	1	9	2	8
8	0,005	10	2	8	1	9	1	9	1	9
Контроль			10	0	9	1	9	1	1	9

Примечание: П - пало, В – выжило.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что сыворотка обладает хорошо выраженными защитными свойствами. Препарат в дозе 0,005 см³ предохраняет от падежа 80 - 90% мышей, получивших сыворотку при гибели 90 – 100% контрольных животных. Следовательно, метод контроля активности сыворотки с использованием одной дозы (0,005 см³) и на дозу 10 животных позволяет объективно оценивать иммуногенность препарата.

Закключение. Результаты опытной работы свидетельствуют, что нами разработан относительно простой и объективный метод контроля активности сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллеза телят, поросят и птиц, приемлемый для практического применения.

Литература. 1. Антонюк, В.П. О повышении качества ветеринарных биологических препаратов / В.П. Антонюк, А.Г. Лихачев, Ю.В. Родин // Сборник научных трудов / ВГНКИ. – Москва, 1984. – с. 91 – 94. 2. Ашмарин, И.А. Статистические методы в микробиологии / И.А. Ашмарин, А.А. Воробьев. – Ленинград: Медицина, 1962. – 180 с. 3. Бойко, А.А. Количественные методы контроля биологических препаратов / А.А. Бойко, Л.В. Кириллов, Г.А. Козловский // Сборник научных трудов / ВГНКИ. – Москва, 1974. Т.20 – с. 10. 4. Бурлацкий, И.Д. Колибактериоз и сальмонеллез и их специфическая профилактика: автореф. дис. доктора вет. наук / И.Д. Бурлацкий; Ленинградский вет. институт. – Ленинград, 1980. – 40 с. 5. Даровских С.В. Поливалентная антитоксическая сыворотка против сальмонеллеза животных (получение, контроль и применение). Автореферат на соиск. уч. ст. канд. вет. наук. – Минск, 2009 – 21 с. 6. Кириллов, Л.В. Методические основы разработки количественных методов контроля специфической активности вакцин и гипериммунных сывороток / Л.В. Кириллов, Н.В. Кружнов // Совершенствование методов государственного контроля ветпрепаратов. – Москва, 1991. – с.8 – 9. 7. Медведев А.П. Производство и контроль гипериммунных сывороток и иммуноглобулина против сальмонеллеза животных. – Автореферат дис. на соиск. уч. ст. докт. вет. наук. – Москва, 1998. – 31 с.

Статья передана в печать 23.02.2012 г.

УДК 619:616,98:578,833,31:615,37:636.4.053:611.018.5

ВЛИЯНИЕ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПОРОСЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ

Жвикова Е. А., Горбунов А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Использование натрия тиосульфата как иммуностимулятора находит все более широкое применение при вакцинациях животных против вирусных и бактериальных болезней.

The application of sodium tiosulphate as immuno – stimulator more steguent usage in vaccinations of animals against virus and bacteriae diseases.