

Заключение. Проведенная опытная работа позволяет сделать выводом том, что иммуногенность эшерихий находится в прямой зависимости от факторов вирулентности (эндотоксинов, адгезивных антигенов, экзотоксинов) которыми они обладают.

Поэтому при конструировании вакцин для специфической профилактики эшерихиоза необходимо изолировать и отбирать энтеропатогенные эшерихии не только с учетом широты их распространенности, но и с последующим выявлением факторов вирулентности выделенных штаммов бактерий и определением влияния этих факторов на иммуногенность разрабатываемых препаратов в состав которых предполагается ввести определенные сероварианты микроорганизмов.

Литература. 1. Бессарабов, Б.Ф., Вашутин, А.А., Воронин, Е.С. и др. *Инфекционные болезни животных. Москва «Колос» - 2007.-671с.* 2. Тугаринов, О.А. *Средства и методы специфической профилактики, лечения и диагностики эшерихиоза животных. Автореферат диссерт., на соиск. уч. ст. доктора ветер. наук. Москва, 1999.-64с.*

Статья поступила 15.09.2010г.

УДК 619:615.373

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Медведев А.П., Даровских С.В., Даровских И.А.

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

В статье представлены результаты опытной работы по совершенствованию способа получения сыворотки против сальмонеллеза животных.

The article contains the research on developing the salmonella immune serum manufacturing.

Введение. Сальмонеллез – полиэтиологическая инфекционная болезнь животных и человека, вызываемая разнообразными серовариантами бактерий рода *Salmonella*, семейства *Enterobacteriaceae* с фекально-оральным механизмом передачи, характеризующаяся разнообразными клиническими проявлениями от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм.

Первый представитель рода *Salmonella* был выделен в 1885 году американскими ветеринарами Сальмоном и Смитом.

В настоящее время известно более 2500 сероваров сальмонелл и Международный сальмонеллезный центр регистрирует ежегодно по 10-20 новых сероваров.

Специфическую активную профилактику сальмонеллеза проводят живыми и инактивированными вакцинами. Однако во многих случаях вакцинация оказывается неэффективной и практикующим специалистам приходится прибегать к применению сыворотки и других лечебных средств.

Впервые активную сыворотку против сальмонеллеза получили в 1892 году Е. Roux и А. Yersen.

В 1931 году С.К. Беззубец получил сыворотку против сальмонеллеза телят. Сыворотку против сальмонеллеза овец предложил В.С. Казарян (1935).

Значительный вклад в дело получения гипериммунной сыворотки для профилактики сальмонеллеза поросят и лечения больных внесли С.Т. Щенников (1929), А.Г. Богдановский, Г.Ф. Панкратов, Н.В. Прокопович (1935), Х.С. Горегляд (1935), И.И. Иванов (1955), А.Г. Малявин (1955).

А.Г. Малявин разработал способ получения от волов поливалентной антитоксической сыворотки против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц. Им же, было налажено производство сыворотки на нескольких биофабриках бывшего СССР.

Для гипериммунизации волов ученый предложил использовать антиген с концентрацией 3 млрд. микробных тел в 1 см³ и готовить его из 16-24 штаммов сальмонелл. Гипериммунизация волов по предложенной схеме включала 19 инъекций антигена с интервалом 4-5 суток и длилась более трех месяцев, что усложняло производство сыворотки и было связано со значительными затратами материальных средств и труда. Поэтому мы провели опытную работу по совершенствованию схемы гипериммунизации волов, предложенной А.Г. Малявиным.

Материалы и методы исследований. Эксперименты начали с изучения агглютинирующей и превентивной активности сыворотки крови волов в процессе гипериммунизации их сальмонеллезным антигеном.

В опыте было задействовано 20 волов массой 380-400 кг, которых иммунизировали по схеме, предложенной А.Г. Малявиным. Титр агглютининов в сыворотке крови волов определили путем постановки реакции агглютинации (РА) после 5,7,10,12,15 и 18-ой инъекций антигена. РА ставили классическим пробирочным методом. Исследуемые сыворотки разводили физраствором 1:25, 1:50, 1:100 и т.д. до 1:12800. К каждому разведению сыворотки, взятой в объеме 1 см³, добавляли по 2 капли стандартного антигена (концентрация 10 млрд. м.т./ см³), смешивали и помещали пробирки в термостат на 16-18 часов. Учет реакции проводили визуально, оценивая образовавшийся агглютинат в крестах.

Превентивную активность сыворотки определяли на морских свинках и голубях. Лабораторным животным сыворотку вводили в дозах: 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008 и 0,00016 см³ – морским свинкам подкожно, голубям – внутримышечно.

На каждую дозу использовали пять животных. Наблюдение за животными вели в течение 10 суток, учитывая павших и выживших. Расчет ИД₅₀ сыворотки проводили по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Результаты исследований. Было установлено, что агглютинирующая активность сыворотки крови подопытных волов нарастает до 10-й инъекции антигена. Последующие инъекции антигена в дозах от 250 до 400 см³ не вели к подъему агглютинирующей активности сыворотки крови волов. Было доказано, что накопление агглютининов для одноименной стадии гипериммунизации в отношении всех четырех типов сальмонелл (*S.*

S. typhimurium, *S. abortus ovis*, *S. dublin*, *S. cholerae suis*), входящих в состав антигена, характеризуется практически одинаковой величиной (титр 1:1600).

Равный титр антител в сыворотке крови волов к сальмонеллам четырех указанных сероваров свидетельствует об отсутствии конкуренции между агглютиногенным действием их на организм животных.

Превентивную активность сыворотки определяли в остром опыте для морских свинок, голубей и белых мышей и выражали в ИД₅₀ для этих видов лабораторных животных.

Превентивная активность сыворотки постепенно нарастала от инъекции к инъекции и достигла максимума после 12-ти подкожных введений антигена (ИД₅₀ в среднем для всех видов животных равнялась 0,012⁺- 0,001 см³). Дальнейшие инъекции не вели к подъему уровня превентивной активности сыворотки крови гипериммунизированных волов.

Активность сыворотки крови волов в отношении всех серотипов сальмонелл после равного числа инъекций существенно не различается, т.е. введение серологически различающихся сальмонелл в организм животного вызывает равную по степени интенсивности реакцию на каждый серотип.

Таким образом, нами было установлено, что для получения активной сыворотки достаточно произвести 12 инъекций антигена. Последующие инъекции антигена от 13 до 19-ой не повышают агглютинирующей и превентивной активности сыворотки крови волов, а увеличивают расход антигена, удлиняют процесс гипериммунизации, ведут к неоправданному расходу материальных средств и дополнительным затратам труда.

В связи с отмеченным, мы задались целью разработать более совершенный способ гипериммунизации волов – продуцентов сыворотки против сальмонеллеза животных.

Для достижения поставленной цели мы апробировали пять схем гипериммунизации, предусматривающих разное количество штаммов сальмонелл в антигене (4 и 16), различную концентрацию антигена (4 млрд. м.т./см³ и 10 млрд. м.т./см³), подкожный и внутримышечный способы введения его, различающееся качественное состояние антигена (инактивированные формалином и живые бактерии).

При исследовании сыворотки крови волов, гипериммунизированных по опытным схемам было установлено, что независимо от способа введения антигена в организм животного, количества штаммов, входящих в состав антигена, его концентрации и качественного состояния, агглютинирующая активность сыворотки крови животных нарастает до 10-й, а уровень превентивной активности до 12-й инъекции антигена.

Наиболее простой в техническом исполнении и позволяющей получать активную сыворотку оказалась схема, предусматривающая применение для гипериммунизации волов живых сальмонелл. На введение инактивированного антигена животные реагировали потерей аппетита, повышением температуры тела, а при введении аттенуированных сальмонелл волю не теряли аппетит и были менее угнетены. Однако, отрицательным свойством живых бактерий оказалась их способность вызывать образование абсцессов практически у всех гипериммунизированных волов. Поэтому рекомендовать схему гипериммунизации животных аттенуированными сальмонеллами для практического применения мы сочли преждевременным.

Применение же инактивированного антигена апробировано многолетней практикой, исключает обсеменение внешней среды, а повышение концентрации микробных тел с 3 до 10 млрд. м.т./см³ позволяет сократить объём вводимых доз в три раза. Это снижает механическое воздействие антигена на окружающие ткани и облегчает манипуляции, связанные с его инъекциями. Введение небольших по объёму роз не требует обязательного применения инъекционных ёмкостей под давлением и системы воздухоподачи, обеспечивающей производство инъекций. Кроме этого подкожный метод введения антигена является самым доступным и простым в техническом исполнении.

Поэтому, схему гипериммунизации волов, предусматривающую применение инактивированного антигена из 4 штаммов сальмонелл (*S. cholerae suis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortus ovis*) в концентрации 10 млрд. м.т./см³ и подкожный метод введения мы рекомендовали для внедрения в производство. И всё же предложенная нами схема оставалась довольно длительной, так как предусматривала 12 инъекций антигена с интервалом между ними 4-5 суток.

В связи с этим, мы продолжили опытную работу в сывороточном цехе Витебской биофабрики, направленную на поиски более рациональной схемы гипериммунизации волов-продуцентов сыворотки против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц. В результате проведённой опытной работы нами был разработан новый способ гипериммунизации волов, предусматривающий 7 внутрибрюшинных инъекций антигена в дозах 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10 см³ в концентрации 10 млрд. м.т./см³ с интервалом 4-5 суток.

Сыворотка, полученная от волов, гипериммунизированных по предложенной схеме была подвергнута комиссионной проверке на безвредность, стерильность и активность, в результате которой установлено соответствие качества препарата действующей нормативной технической документации. Известно, что эффективность лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза животных в значительной степени зависит от соответствия находящегося в ней антител, тем серовариантам сальмонелл, которые наиболее широко циркулируют среди животных и наиболее часто вызывают клиническое проявление болезни.

В связи с отмеченным, мы ввели в состав антигена, предназначенного для гипериммунизации волов-продуцентов сыворотки циркулирующей среди животных серовариант бактерий *S. enteritidis*, который имеет в этиологии болезни значительную роль.

Путём гипериммунизации волов, сконструированным нами антигеном, была получена от них специфическая сыворотка. Лечебную эффективность сыворотки испытали для телят, которых заразили ассоциацией возбудителей сальмонеллеза (*S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*). Лечение животных начинали при появлении первых признаков болезни. Сыворотку вводили внутримышечно в дозах 60-80 см³ в соответствии с наставлением по применению препарата. Благодаря применению сыворотки выздоровело 75% телят.

Заключение. На основании результатов опытной работы нами усовершенствован способ получения сыворотки против сальмонеллеза животных. Для промышленного производства предложен новый способ гипериммунизации волов-продуцентов сыворотки, предусматривающий семь внутрибрюшинных инъекций инактивированного антигена (в дозах 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10 см³), приготовленного из серовариантов сальмонелл: *S.*

dublin, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, что позволяет получить препарат, содержащий антитела к названным бактериям наиболее часто вызывающим сальмонеллёз у разных видов животных.

Литература. 1. Медведев А.П. получение и контроль антитоксической поливалентной сыворотки против сальмонеллёза телят, поросят, ягнят, овец и птиц. Автореферат дис. на соиск. уч. ст. доктора ветер. наук. Витебск, 1983.-34 с. 2. Медведев А.П. Производство и контроль гипериммунных сывороток и иммуноглобулина против сальмонеллёза животных. Автореферат дис. на соиск. уч. ст. доктора ветер. наук. Москва, 1998.-31 с. 3. Даровских С.В. поливалентная антитоксическая сыворотка против сальмонеллёза животных (получение, контроль и применение). Автореферат дис. на соиск. уч. ст. канд. ветер. наук. Витебск, 2009. - 21 с. 4. Медведев А.П. Противобактериальные лечебно - профилактические сыворотки. Витебск, УО «ВГАВМ», 2007 – 379 с.

Статья поступила 15.09.2010г.

УДК 619:579.862.1.

ПАТОГЕННОСТЬ СТРЕПТОКОККОВ

Медведев А.П., Мисник А.М., Соболева И.В.

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

В статье дана характеристика основных биологических свойств стрептококков, результаты изоляции патогенов от животных, определение их вида и патогенности.

In article the characteristic of the basic biological properties of streptococci, results of isolation pathogen from animals, definition of their kind and pathogenicity is given.

Введение. Кокки – широко распространенная группа шаровидных бактерий. Некоторые из них являются патогенными для животных и человека, особенно, представители двух семейств: *Micrococccaceae*, *Streptococcaceae*. В эти семейства входят патогенные и условно-патогенные кокки, объединенные общими морфологическими, генетическими и биологическими свойствами. Кроме этого, их объединяет способность вызывать гнойно-воспалительные процессы.

К семейству *Streptococcaceae* отнесено 6 родов: *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*. Наибольшее значение в патологии имеет род *Streptococcus*. В род включены сферические и овоидные кокки размером 0,5-2 мкм, которые в препаратах располагаются парами или короткими цепочками. Эти бактерии грамположительны, неподвижны, спор не образуют, некоторые имеют капсулу, хемоорганотрофы, факультативные анаэробы, каталазоотрицательны, большинство видов обладает гемолитической активностью.

На основании отличий в полисахаридных антигенах стрептококки разделены на 21 серологическую группу, обозначенных буквами латинского алфавита (Берджи, 1997). Данные отечественных и зарубежных ученых свидетельствуют о повсеместном распространении стрептококкозов, вызываемых бактериями различных серологических групп (А, В, С, D, Е, Н, L, Р, S, Z). По мнению ученых и практикующих специалистов, доля стрептококковых инфекции по отношению к другим инфекционным болезням с каждым годом увеличивается. В Российской Федерации на широкую распространенность стрептококкозов среди крупного рогатого скота, овец, свиней, лошадей и других видов животных указывают многие из исследователей (Е.В. Малик, 2000; В.А. Есепенок, Х.С. Горбатова, 2006; Ф.М. Нурғалиев, 2006 и др.).

В последнее десятилетие отмечено появление остро протекающих стрептококкозов, так называемых «инвазивных» форм стрептококковых инфекций, которые зачастую заканчиваются летально. Стрептококкозы у людей чаще всего вызывают бактерии серогрупп А, В, С. Животных возбудителями стрептококкозов являются патогенные стрептококки различных видов. Однако, необходимо заметить, что зачастую вызывают болезнь бактерии серогрупп С и А (*Str. zooepidemicus*, *Str. equisimilis*, *Str. disgalactiae*, *Str. pyogenes*), которые относятся к условно-патогенным микроорганизмам.

Вопросы патогенности, вирулентности и изменчивости микроорганизмов, вообще и, в частности стрептококков, являются проблематичными для медицинской и ветеринарной микробиологии. Особый интерес представляют условно-патогенные бактерии, содержащие несколько факторов патогенности, с чем связывают отсутствие нозологической специфичности вызываемых ими инфекций. Например, известно, что стрептококки группы С вызывают у животных инфекции, протекающие в нескольких в формах: легочной, кишечной, суставной, нервной. При стрептококкозах, вызываемых бактериями группы А, различают также четыре формы клинического проявления инфекции: респираторную, кожную, гнойную и форму постстрептококкового осложнения.

Большинство исследователей считают, что к условно-патогенным необходимо отнести таких представителей микрофлоры человека и животных, которые появились в процессе эволюционного отбора и приобрели способность к использованию макроорганизма в качестве среды обитания. Эти микробы вызывают заболевание при формировании микробиологических и иммунных нарушений в организме хозяина, т.е. становятся патогенными.

В современной медицинской ветеринарной литературе существуют разные подходы к определению патогенности микроорганизмов. Некоторые авторы определяют патогенность как сумму биохимических механизмов, с помощью которых микробы вызывают болезнь. Термин патогенность при этом определяется как внутривидовая характеристика, ввиду того, что природные популяции бактерий состоят из множества клонов. Носителями патогенности являются клон или клоновая линия, содержащие в своей ДНК, так называемые участки патогенности. Эти участки ДНК отвечают за транспорт эффективных молекул из цитоплазмы к бактериальной поверхности, где они взаимодействуют с белками клеточного хозяина, вызывая их модификацию.

По наличию типоспецифических антигенов стрептококки делят на серовары М, R, Т. По М-антигену различают более 100 сероваров в группе А, по Т-антигену – еще несколько десятков.