

до применения препарата, интенсивность выделения личинок составляла $123,2 \pm 27,73$ личинок в 1 г фекалий. К 15-му дню выделение личинок прекратилось. Экстенс- и интенсэфективность инвазина, баг-тетрамизола 10%, экомектина Е орального и альбенела 100 составила 100%. В контрольной группе, которая служила инвазированным контролем, отмечалось увеличение количества выделяемых личинок мюллерий.

По результатам исследования было установлено, что до применения инвазина в пробах фекалий коз количество личинок мюллерий составляло $123,1 \pm 36,50$ личинок в 1 г фекалий. На 15-й день личинок мюллерий в пробах фекалий коз обнаружено не было. В группе коз, где применяли баг-тетрамизол 10%, до применения препарата интенсивность выделения личинок составляла $109,9 \pm 35,01$ личинок в 1 г фекалий. Выделение личинок прекратилось к 15-му дню. В группе коз, где применяли экомектин Е оральный, до применения препарата интенсивность выделения личинок составляла $145,5 \pm 20,91$ личинок в 1 г фекалий. Выделение личинок прекратилось на 15-й день. В группе коз, где применяли альбенел 100, до применения препарата интенсивность выделения личинок составляла $126,6 \pm 44,07$ личинок в 1 г фекалий. Выделение личинок мюллерий прекратилось к 15-му дню. У животных контрольной группы показатели зараженности не претерпели существенных изменений. Экстенс- и интенсэфективность инвазина, баг-тетрамизола 10%, экомектина Е орального и альбенела 100 составила 100%.

Заключение. По результатам исследований было установлено, что мюллерии были выявлены во всех хозяйствах Витебской области, где проводились исследования. В результате проведенных исследований было установлено, что антгельминтики: инвазин, альбенел 100, баг-тетрамизол 10%, экомектин Е оральный обладают высокой лечебной эффективностью при мюллерииозе мелкого рогатого скота.

Литература. 1. Барановский, А. А. Особенности ассоциированных гельминтозов пищеварительного канала у коз в сезонном аспекте на территории Беларуси / А. А. Барановский // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – 2012. – Т. 48, вып. 1. – С. 158–161. 2. Гадаев, Х. Х. Оценка эффективности некоторых антигельминтиков против легочных и кишечных гельминтозов овец / Х. Х. Гадаев, В. М. Шамхалов // Тр. Всерос. ин-та гельминтологии. – Москва, 2006. – Т. 42. – С. 109–113. 3. Кейдане, Д. Основные эндопаразиты коз в Латвии и опыт борьбы с ними / Д. Кейдане, П. Кейлик, А. Круплите // Пробл. инфекц. и инваз. болезней в животноводстве на соврем. этапе. – Москва, 1999. – С. 266–268. 4. Мальцев, К. Л. Легочные стронгилятозы животных в Центральной зоне Европейской части РФ (эпизоотология, меры борьбы): автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 03.00.19, 16.00.03 / К. Л. Мальцев; Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия. – Н. Новгород, 2006. – 42 с. 5. Мироненко, В. М. Паразитические простейшие и гельминты пищеварительной системы жвачных в Беларуси / В. М. Мироненко, В. Г. Кирищенко // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2013. – № 4 (76) – С. 39–43. 6. Сулейманов, Ф. И. Исследования особенностей мюллерииоза овец в Псковской области / Ф. И. Сулейманов, А. Н. Яковлев // Известия Великолукской ГСХА. – 2013. – № 1. – С. 59–66. 7. Lungworm Infections in Goats Slaughtered in Algeria / M. Kouidri [et al] // Global Veterinaria. – 2013. – 11 (3) – P. 293–296. 8. McCraw, B. M. Muellerius capillaris: Resumption of shedding larvae in feces following anthelmintic treatment and prevalence in housed goats / B. M. McCraw, P. I. Menzies // Canad. veter. J. – 1988. – Т. 29, N 5. – P. 453–454. 9. Mironenko, V. M. Main helminthoses of sheep in Belarus and drugs for treatment / V. M. Mironenko, V. G. Kirischenko, I. K. Konakhovich // The 2-nd year of advanced research in scientific areas, Slovak Republic, 2-6 december 2013. / Institution of the university of Zilina. – Slovak Republic, 2013. – P. 299–300. 10. Marshet, Adugna. Prevalence of Ovine Lungworms in and Around Wukro, Tigray Region, Ethiopia / Marshe Adugna, Berihun Afera, Netsanet Berhe // Global Veterinaria. – 2014. – 12 (4) – P. 474–478. 11. First record of Muellerius capillaris (Nematoda, Protostrongylidae) in northwestern Argentina / V. H. Suarez [et al]; Institute of Parasitology, SAS, Košice // Helminthologia. – 2014 – Vol. 51, №4. – P. 288–292.

Статья передана в печать 04.09.2018 г.

УДК 619:579.842.11

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ЭШЕРИХИЙ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА

*Медведев А.П., *Вербицкий А.А., *Даровских С.В., **Кулешов Д.Б.

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

**ОАО «БелВитунифарм», п. Должа, Республика Беларусь

В статье рассмотрены вопросы, касающиеся оценки биологических свойств производственных штаммов эшерихий в связи с необходимостью получения специфического антигена, который в перспективе можно было бы применять в качестве компонента моно- и поливалентных противозэшерихиозных вакцин и использовать для гипериммунизации волов-продуцентов лечебно-профилактической сыворотки. **Ключевые слова:** эшерихии, штаммы, культуральные свойства, антиген, биохимические свойства, среды, колонии, патогенность, диссоциация.

EVALUTION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF E. COLI STRAINS USED FOR PRODUCTION OF SPECIFIC ANTIGEN

*Medvedev A.P., *Verbitsky A.A., *Darovsky S.V., **Kuleshov D.B.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

**OJCM «BelVitinipharm», Dolzha, Republic of Belarus

The article considers the questions regarding the evaluation of biological properties of *E.coli* strains meant for production of the specific antigen which can be used for developing of some mono- and polyvalent vaccines against colibacillosis. **Keywords:** *E. coli*, strains, culturing properties, antigen, biochemical properties, media, colonies, pathogenicity, dissociation.

Введение. Эшерихиоз (колибактериоз) – инфекционная болезнь в основном молодняка разных видов животных, характеризующаяся диареей, обезвоживанием организма, нарастающей слабостью, интоксикацией, гибелью животных [1, 2, 10].

У взрослых особей эшерихии могут вызывать аборт, артриты, абсцессы и сепсис. Заболеваемость при колибактериозе достигает 90%, летальность – до 40%. Болезнь представляет и социальную опасность, т. к. эшерихии могут поражать людей.

Возбудителей колибактериоза относят к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Escherichia*. Род представлен 5 видами. Основную роль в инфекционной патологии играет *E. coli* – кишечная палочка [3, 4, 5].

Эшерихии имеют сложную антигенную структуру. У них обнаружен соматический O-, поверхностный K- и жгутиковый H – антигены, на основании которых дифференцируют более 9000 серологических вариантов. Кроме этого, у бактерий имеются адгезивные антигены, ответственные за прикрепление их к эпителиальным клеткам кишечника.

Колібактериоз широко распространен в различных странах мира, а также болезнь повсеместно регистрируют в хозяйствах Республики Беларусь. По количеству неблагополучных пунктов эшерихиоз занимает первое место среди всех инфекционных болезней животных и наносит значительный экономический ущерб животноводству страны. Предрасполагающими и способствующими факторами возникновения колибактериоза являются: несоблюдение норм полноценного кормления животных, содержание их в неудовлетворительных параметрах микроклимата, послеродовая патология, влияние на организм стрессовых ситуаций, токсинов и т. д. Необходимо констатировать, что колибактериоз представляет собой проблему международного масштаба. Недаром в Копенгагене организован и работает Международный эшерихиозный центр.

По мнению экспертов ВОЗ, ученых, практических работников, самыми действенными средствами в борьбе с инфекционными болезнями, в том числе и с колибактериозом, являются специфические биопрепараты – вакцины и гипериммунные сыворотки.

Для специфической профилактики колибактериоза в Республике Беларусь ОАО «БелВитунифарм» выпускает вакцину поливалентную против колибактериоза (эшерихиоза) телят, поросят, ягнят. Предприятие производит вакцину в нескольких вариантах [9]:

- против колибактериоза поросят, содержащую в своем составе антигены кишечной палочки серогрупп: 08, 09, 078, 020, 0139, 0141, 026, 015, 0101, 0115;

- против колибактериоза телят и ягнят, содержащую антигены *Escherichia coli* серогрупп: 015, 020, 026, 0117, 0139, 055, 041, 0115, 0101, 0141, 08, 09, 078;

- против колибактериоза поросят с адгезивными антигенами, относящимися к серогруппам: 08, 09, 078, 020, 0139, 0141, 026, 015, 0101, 0115, K 88, K 99, 987 P, K 41;

- против колибактериоза телят и ягнят, содержащую в своем составе адгезивные антигены K 88, K 99, 987 P, F 41 и антигены серогрупп: 020, 026, 0117, 0139, 015, 041, 055, 0115, 0101, 0141, 08, 09, 078.

Для пассивной профилактики болезни и лечения больных биопредприятие выпускает поливалентную сыворотку против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных.

Специфическим компонентом противозэшерихиозных вакцин является эшерихиозный антиген, который обуславливает противозэшерихиозную эффективность биопрепаратов, вследствие формирования у вакцинированных животных напряженного иммунитета определенной длительности [8, 10].

Поливалентную сыворотку против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных получают путем гипериммунизации волов-производителей этой сыворотки. Вакцины и сыворотку готовят с применением производственных штаммов эшерихий. От соответствия биологических свойств этих штаммов определенному роду и виду зависит специфичность, антигенность и иммуногенность эшерихиозного антигена, вводимого в состав вакцин и применяемого для гипериммунизации производителей лечебно-профилактической сыворотки [10].

Производственные штаммы должны представлять собой однородную популяцию микроорганизмов с характерными морфологическими, биохимическими, культуральными, антигенными и другими признаками [7, 10].

В связи с вышеотмеченным, целью данной работы явилась оценка биологических свойств производственных штаммов эшерихий, которые можно было бы использовать для получения эшерихиозного антигена, вводимого в состав специфических вакцин и применяемого для гипериммунизации волов-продуцентов соответствующей сыворотки.

Материалы и методы исследований. В опытной работе использовали производственные штаммы *Esherichia coli*, применяемые для приготовления эшерихиозных антигенов серогрупп: 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 0101, 0115, 0117, 0139, 0141 и штаммы с адгезивными антигенами – К 88, К 99, 987 Р, F 41. Для культивирования эшерихий применяли обычные среды: МПБ, МПА, МПЖ, МППЖА, а также дифференциально-диагностические – Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар, среду Левина. Выращивание бактерий вели в течение 20–24 часов при температуре 37–38°C. Перед посевом эшерихий в питательные среды устанавливали рН их в пределах 7,2–7,4.

Морфологию эшерихий и их тинкториальные свойства определяли путем микроскопии препаратов – мазков, окрашенных по Граму.

Культуральные свойства эшерихий изучали по характеру роста бактерий в жидкой, полужидкой средах и на поверхности плотной питательной среды. Посев в полужидкую среду проводили путем укола бактериологической петлей до дна пробирки. На поверхность плотной питательной среды штаммы эшерихий наносили таким образом, чтобы сформировавшиеся колонии были изолированы друг от друга.

Степень диссоциации культур эшерихий исследовали путем просмотра колоний на МПА в косопадающем свете на предмет выявления «S-», «O-» и «R-» форм с последующей постановкой пробы кипячения по Бернгофу, т.е. смывы суточных агаровых культур физраствором с концентрацией 2 млрд/см³ прогревали в водяной бане при 100°C в течение часа. Если смывы после прогревания оставались в виде гомогенной взвеси считали, что культуры на поверхности плотной питательной среды формировали колонии в истинной «S» форме.

Ферментативные свойства штаммов оценивали по способности сбраживать углеводы, глюкозиды и многоатомные спирты на средах Гисса, свертывать молоко, разжижать желатин, утилизировать цитратные соли, образовывать индол и сероводород.

Антигенные свойства исследовали с помощью набора диагностических сывороток. Идентификацию эшерихий проводили с сыворотками в реакции агглютинации на стекле и в пробирочной реакции.

Вирулентные свойства штаммов характеризовали по величине ЛД₅₀ для белых мышей массой 14–16 г. При внутрибрюшинном введении суточной агаровой культуры в дозах от 1,0 до 0,0001 млрд м. к. в 1 см³. На каждую дозу использовали не менее 5 мышей. Гибель мышей учитывали в течение 10 суток [10]. ЛД₅₀ для белых мышей рассчитывали по методу Ашмарина в модификации Воробьева (1972).

Гемолитические свойства культур определяли по образованию зон гемолиза вокруг колоний, выросших на кровяном агаре с 5%-ным содержанием дефибринированной крови барана, при культивировании в течение 18–20 часов при температуре 37°C.

Результаты исследований. С морфологической точки зрения эшерихии всех серогрупп были однотипными и представляли собой палочки с закругленными концами шириной 0,3-0,6 мкм и длиной 1–3 мкм. Бактерии окрашивались по Граму отрицательно, были подвижными, не формировали спор и капсул, за исключением эшерихий, относящихся к серогруппам 08, 09, 010 (образовывали капсулы).

Кишечные палочки хорошо росли на обычных и дифференциально – диагностических средах при температуре 37–38°C и рН сред 7,2–7,4.

В МПБ эшерихии интенсивно росли, вызывая помутнение среды и образование осадка, который легко разбивался при встряхивании пробирки. На поверхности бульона бактерии формировали легкую пленку или пристеночное кольцо.

На МПА микроорганизмы образовывали круглые, равномерно-выпуклые, полупрозрачные сероватые колонии с ровными краями диаметром 2–3 мм. На среде Эндо колонии были темно-вишневого цвета с металлическим блеском, на среде Плоскирева – колонии розового цвета, среде Левина – темно-фиолетового, а на висмут – сульфитном агаре – серо-белого цвета. В МПЖ бактерии росли по уколу, не вызывая ее разжижения. В полужидком агаре подвижные эшерихии росли по всей массе среды, а неподвижные – по уколу в виде серо-белого стержня.

Производственные штаммы эшерихий серогрупп 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 0101, 0115, 0117, 0139, 0141 ферментировали: глюкозу, лактозу, маннит, мальтозу, галактозу, сорбит, ксилозу, арабинозу, адонит, маннозу и не расщепляли салицин, изгонит, уреазу, цитрат аммония, фенилаланин. Бактерии обладали способностью образовывать индол и не выделяли сероводород.

В реакции агглютинации бактерии всех производственных штаммов проявляли высокую агглютинабельность с гомологичными O- и K-сыворотками, вступая в реакцию со специфическими препаратами до их титра.

Гемолитические и вирулентные свойства эшерихий играют важную роль в их иммуноген-

ности, и поэтому возникает необходимость оценки производственных культур, предназначенных для изготовления противозэшерихиозных средств, по упомянутым свойствам.

Результаты изучения гемолитической активности и вирулентности эшерихий для белых мышей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Гемолитическая активность эшерихий и их вирулентность для белых мышей

Серогруппа	Гемолиз на кровяном МПА	ЛД ₅₀ для мышей (млн микр. кл.)
08	-	169,1
09	+	171,1
015	+	32,5
020	-	46,5
026	-	89,1
041	-	12,4
055	-	24,5
078	-	12,2
0101	+	650,1
0115	-	1,2
0117	-	62,5
0139	+	232,0
0141	-	614,0

Данные таблицы показывают довольно широкую вариабельность 50%-ной летальной дозы бактерий различных серологических групп для белых мышей, что зависит от антигенной структуры, природы штаммов и вида животных, от которых они были изолированы. Так, штаммы эшерихий, поражающие преимущественно телят (0,15, 020, 026, 041, 055, 078, 0115, 0117) и не содержащие адгезивных антигенов, имеют низкое значение ЛД₅₀, которое составляет от 1,2 до 89,1 млн м. к. Бактерии, относящиеся к серогруппам (08, 09, 0139, 0141), вызывающие главным образом колибактериоз свиней, имеют высокое значение 50%-ной летальной дозы, которая колеблется для белых мышей в пределах от 169,1 до 614,0 млн м. к.

Несмотря на значимую вариабельность 50%-ной летальной дозы для белых мышей, цифровые данные многих опытов незначительно отличаются от паспортных требований на каждый производственный штамм, что можно объяснить индивидуальной реактивностью организма лабораторных животных.

Заключение. Результаты определения биологических свойств производственных штаммов эшерихий свидетельствуют о том, что они по своим морфологическим, тинкториальным, ферментативным, культуральным, антигенным, гемолитическим и вирулентным признакам соответствуют определенному роду, виду и серогруппе бактерий, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*. Следовательно, штаммы эшерихий 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 0101, 0115, 0117, 0139, 0141 оцениваются нами, как вполне пригодные для приготовления противозэшерихиозных вакцин и антигена, предназначенного для гипериммунизации волов-продуцентов лечебно-профилактической сыворотки против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных, тем более, что бактерии упомянутых серогрупп чаще всего поражают животных в хозяйствах страны.

Литература. 1. Борисович, Ю. Ф. *Ветеринарные препараты : справочник* / Ю. Ф. Борисович, Л. В. Кириллов ; ред. Д. Ф. Осидзе. – Москва : Колос, 1981. – 448 с. 2. *Курс лекций по частной ветеринарной микробиологии : учебно-методическое пособие для студентов по специальности 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина» и 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза»* / А. П. Медведев [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2015. – 140 с. 3. Максимович, В. В. *Инфекционные болезни свиней* / В. В. Максимович. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 373 с. 4. Парайко, И. Н. *Колибактериоз поросят в Республике Молдова (эпизоотология, профилактика и лечение) : автореф. дис. ... канд. вет. наук* / И. Н. Парайко. – Новосибирск, 1980. – 14 с. 5. Пирожков, М. К. *Иммунопрофилактика эшерихиоза молодняка сельскохозяйственных животных* / М. К. Пирожков, Ю. А. Малахов, О. А. Тугаринов // *Материалы научной конференции, посвященной 50-летию Краснодарской НИВС.* – Краснодар, 1996. – С. 89–90. 6. *Практикум по частной микробиологии : учебное пособие для студентов сельскохозяйственных вузов по специальности «Ветеринарная медицина»* / А. А. Солонко [и др.]; ред. А. А. Гласкович. – Минск : Ураджай, 2000. – 250 с. 7. *Справочник по применению вакцин, зарегистрированных в Республике Беларусь, против инфекционных болезней крупного рогатого скота, свиней, мелкого рогатого скота, лошадей, плотоядных и животных разных видов / сост. В. В. Максимович [и др.].* – Минск : Техноперспектива, 2006. – 166 с. 8. Тугаринов, О. А. *Средства и методы специфической профилактики, лечения и диагностики эшерихиоза животных : дис. ... докт. вет. наук* / О. А. Тугаринов. – Москва, 1998. – 416 с. 9. *Частная эпизоотология : учебное пособие для студентов высших учебных заведений* / В. В. Максимович [и др.]; под ред. В. В. Максимовича. – Минск : ИВЦ Минфина, 2010. – 628 с. 10. *Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина»* / В. В. Максимович [и др.]; под ред. В. В. Максимовича. – Минск : ИВЦ Минфина, 2012. – 776 с.

Статья передана в печать 06.09.2018 г.