хозяйство должен быть наложен карантин [4].

В настоящее время действенной мерой борьбы и профилактики болезни считается убой положительно реагирующих птиц.

Многие племенные хозяйства и птицефабрики, имеющие свои родительские стада, вакцинируют птицу против ИАЦ живой вакциной, однако исследования Э.Д. Джавадова [7, 11] показывают, что это не решает проблему. Вирус поражает не только цыплят раннего возраста, но и птицу всех возрастов. Аттенуированные штаммы вируса ИАЦ нестабильны и способны реверсировать к исходной патогенности в процессе нескольких (начиная от 10) пассажей на цыплятах.

Среди инактивированных препаратов, представленных на отечественном рынке, вакцины серии «Авикрон» отличает широкий спектр возможностей. В результате испытаний вакцины против ИАЦ были получены положительные результаты: более высокий уровень антител у привитой птицы; передача материнских антител у цыплят составляет 100%, а уровень материнского иммунитета защищает цыплят от заражения до 18-22-дневного возраста; исключена трансовариальная передача вируса ИАЦ [9].

Заключение. На основании проведенного анализа литературных источников отечественных и зарубежных автором нами установлено, что инфекционная анемия цыплят относится к малоизученным болезням, многие стороны диагностики и профилактики требуют дополнительного изучения.

Литература. *1. Бакулин, В. А. Болезни птиц / В. А. Бакулин. – Санкт–Петербург : Искусство России, 2006. – 688 с. 2. Болезни птиц : учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Ветеринария» / Б. Ф. Бессарабов [и др.]. – Санкт–Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2007. – 448 с. 3. Болезни птиц : учебное пособие / А. И. Ятусевич [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич, В. А. Герасимчик. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 403 с. 4. Болезни сельскохозяйственной птицы. Диагностика, лечение и профилактика / авт.–сост. Л. С. Моисеенко. – Ростов–на–Дону : Феникс, 2016. – 192 с. 5. Вирусная анемия – скрытая угроза промышленному птицеводству / А. С. Алиев [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2012. – № 6. – С. 30–33. 6. Громов, И. Н. Диагностика инфекционной анемии цыплят / И. Н. Громов, А. С. Алиев // Наше сельское хозяйство. Ветеринария и животноводство. – 2013. – № 22. – С. 46–50. 7. Джавадов, Э. Д. Вирусные болезни птицы: диагностика и профилактика / Э. Д. Джавадов // Наше сельское хозяйство. Ветеринария и животноводство. – 2015. – № 10. – С. 28–31. 8. Диагностика и патоморфологические изменения в крови и органах иммунной системы птиц при инфекционной анемии цыплят : методические рекомендации / И. Н. Громов [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ 2012. – 58 с. 9. Инактивированные вакцины серии «Авикрон» – эффективная профилактика болезней птиц в промышленном птицеводстве / Э. Д. Джавадов [и др.] // Ветеринария. – 2009. – № 6. – С. 13–14. 10. Инфекционная анемия цыплят : учебно–методическое пособие / А. С. Алиев [и др.] ; Санкт–Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт–Петербург : СПбГАВМ, 2013. – 52 с. 11. Инфекционная патология в промышленном птицеводстве: реалии и перспективы / Э. Д. Джавадов [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2016. – № 2. – С. 24–27. 12. Цирковирусная инфекция птиц / А. С. Алиев [и др.] // Ветеринария. – 2011. – № 9. – С. 27–32. 13. Chronological observations on haemato–pathological changes in chicks inoculated with chicken anemia agent / T. Tanigucni [et al.] // Natl. Instt. Anim. Hlth. Q. – 1983. – Vol. 23. – P. 1–12. 14. Comparison of a putative second serotype of chicken infectious anaemia virus with a prototypcal isolate I. pathogenesis / E. Spackman [et al.] // Avian Dis. – 2002. – Vol. 46. – P. 945–955. 15. Yuasa, N. Effect of chemicals on the infectivity of chicken anaemia virus / N. Yuasa // Avian Pathol. – 1992. – Vol. 21. – P. 315–319.*

Статья передана в печать 26.04.2019 г.

УДК 619:376.842.14

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ДЛЯ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ ВОЛОВ-ПРОДУЦЕНТОВ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ ЭШЕРИХИОЗА И САЛЬМОНЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Кулешов Д.Б.
ОАО «БелВитунифарм», п. Должа, Республика Беларусь

В статье приведены сведения по приготовлению в производственных условиях специфического антигена, определению его качества и пригодности для гипериммунизации волов-продуцентов лечебно-профилактической сыворотки против эшерихиоза и сальмонеллеза телят. ***Ключевые слова:*** *эшерихии, сальмонеллы, антиген, штаммы, мыши, свойства, сыворотка, стерильность, безвредность, активность.*

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

DEVELOPING A SPECIFIC ANTIGEN FOR HYPERIMMUNIZATION OF OXEN FOR SERUM AGAINST ESCHERICHIOSIS AND SALMONELLOSIS

Kuleshov D.B.
Belvitunifarm, Dolzha, Republic of Belarus

The article contains data on producing a specific antigen, its quality control and validity for hyperimmunization of oxen intended for production of serum against calves escherichiosis and salmonellosis. ***Keywords:*** *Escherichia, Salmonella, antigen, strains, mice, properties, serum, sterility, safety, activity.*

Введение. В сельхозпредприятиях Республики Беларусь самыми распространенными инфекционными болезнями являются эшерихиоз и сальмонеллез [3, 8, 9]. В качестве специфических средств в борьбе с ними используют вакцины, лечебно-профилактические гипериммунные сыворотки, иммуноглобулины, бактериофаги. Наиболее востребованными препаратами являются вакцины и сыворотки [1, 3, 7]. Сывороточные препараты применяют для пассивной профилактики многих инфекционных болезней, в том числе эшерихиоза и сальмонеллеза.

Сыворотки относятся к ценным биологическим препаратам ввиду наличия в них специфических антител. Кроме этого, сыворотки оказывают положительное влияние на организм, т.е. повышают естественную резистентность его, стимулируют синтез белков, интенсифицируют обменные процессы, оказывают антитоксическое действие, пополняют организм энергетическими и пластическими веществами [10, 7].

Известно, что основной отход различных видов сельскохозяйственных животных отмечается в возрасте до одного месяца, причем заболеваемость и падеж повышаются в осенне-зимний период. Одной из причин гибели молодняка является иммунобиологическая незрелость организма животных. Низкая резистентность организма в ранний период развития животных обусловливается пониженной активностью факторов защиты из-за несовершенства протеиногенных органов и всей иммунной системы. Поэтому развивается белковая недостаточность, наблюдается дефицит протеинов для синтеза тканей растущего организма, антител, ферментов, гормонов и т.д. [11]. С учетом этого применение специфических и неспецифических сывороток в комплексе мероприятий по борьбе с болезнями молодняка раннего возраста приобретает важное значение.

Эшерихии и сальмонеллы широко распространены в природе и относятся к одному семейству – *Enterobacteriaceae*. Среди них имеются сапрофиты, условно-патогенные и патогенные. Последние могут вызывать эшерихиоз и сальмонеллез животных и человека [2]. В настоящее время в борьбе с этими болезнями значительная роль принадлежит лечебно-профилактическим гипериммунным моносыворотками. Однако зачастую эшерихии и сальмонеллы вызывают у животных смешанную инфекцию, что диктует практическую необходимость приготовления и применения ассоциированных биопрепаратов. В этой связи получение сыворотки против эшерихиоза и сальмонеллеза животных является вполне целесообразным.

Эшерихии и сальмонеллы чаще всего поражают поросят и телят. Возбудителями эшерихиоза телят являются в основном бактерии, принадлежащие к серогруппам 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 0101, 0115, 0117, 0139, 0141 [2, 7, 5]. Сальмонеллез у телят вызывают *Sal. dublin* и *Sal. typhimurium*, очень редко – другие серовары сальмонелл [2, 5, 8, 9].

Учитывая этиологическую структуру эшерихиоза и сальмонеллеза, антигенное родство возбудителей этих болезней, мы решили приготовить антиген, который можно было бы использовать для гипериммунизации волов с целью получения от них ассоциированной лечебно-профилактической сыворотки.

Полагаем, что производство такой сыворотки является оправданным, так как практикующие врачи ветеринарной медицины заинтересованы в приобретении препарата с более широким спектром действия, чем моносыворотки, а ОАО «БелВитунифарм» с освоением выпуска ассоциированного препарата расширит круг потребителей и приобретет устойчивый рынок сбыта. К тому же, арсенал борьбы с эшерихиозом и сальмонеллезом пополнится еще одним специфическим препаратом. Экспериментальная работа выполнена в производственных условиях упомянутого биопредприятия, осуществляющего выпуск препаратов в промышленном масштабе. Однако получение активной сыворотки зависит о многих факторов и, в первую очередь, от качества антигена, применяемого для гипериммунизации продуцентов.

Поэтому целью данной работы явилось получение специфического антигена, определение его качества и возможности использования для гипериммунизации волов-продуцентов сыворотки против эшерихиоза и сальмонеллеза телят.

Материалы и методы исследований. В опытной работе использовали производственные штаммы эшерихий, относящиеся к серогруппам: 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 0101, 0115, 0117, 0139, 0141. Бактерии этих серогрупп чаще всего вызывают эшерихиоз у крупного рогатого скота. Кроме эшерихий для приготовления ассоциированного антигена применяли штаммы сальмонелл: *Sal. dublin* 373 и *Sal. typhimurium* 371. Микроорганизмы этих сероваров являются наиболее частыми возбудителями сальмонеллеза у крупного рогатого скота и особенно у телят.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Культивирование эшерихий и сальмонелл проводили на обычных средах: МПБ, МПА, МПЖ, МППЖА при значении pH сред 7,2-7,4 и при температуре 37-38 ^{o}С. Кроме обычных сред использовали дифференциально-диагностические – Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар.

Морфологические свойства сальмонелл и эшерихий определяли путем световой микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Культуральные свойства бактерий изучали по характеру роста их в жидких, полужидких и на плотных питательных средах. Подвижность микроорганизмов определяли путем посева уколом в полужидкий агар.

Биохимические свойства эшерихий и сальмонелл определяли по их способности ферментировать сахара, выделять индол и сероводород, используя при этом среды Гисса и дифференциально-диагностические среды.

Степень диссоциации культур бактерий исследовали путем просмотра колоний на МПА в косопроходящем свете на предмет выявления их «S», «O» и «R» форм.

Антигенную структуру эшерихий и сальмонелл определяли в РА с соответствующими диагностическими сыворотками, руководствуясь наставлениями по их применению.

Для получения необходимого количества бакмассы эшерихий и сальмонелл их культивировали реакторным способом. В качестве питательной среды использовали бульон Хоттингера.

Выращивание эшерихий вели с учетом их колициногенности, т.е. матровые расплодки бактерий объединили в три группы: первую группу составили из штаммов сероваринтов 020, 026, 0117, 0139, вторую – 015, 041, 055, 0101, 0115, третью – из штаммов микробов, относящихся к серогруппам 08, 09, 078 [2, 7].

Штаммы сальмонелл каждого сероварианта выращивали раздельно. Выращенные культуры эшерихий и сальмонелл инактивировали формалином в течение 35 суток.

Для составления ассоциированного антигена инактивированные культуры смешивали в следующем соотношении: 4 части эшерихий первой группы + 6 частей второй + 3 части третьей группы + 6 частей *Sal. dublin* 373 и 6 – *Sal. typhimurium* 371.

После составления антигена его подвергали проверке на стерильность, безвредность и активность.

Испытание на стерильность провели путем высева антигена на питательные среды (МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, среду Сабуро) с последующим выдерживанием их в термостате при 37-38 ^{o}С в течение 10 суток. Среду Сабуро помещали в отдельный термостат, поддерживающий температуру в пределах 20-22 ^{o}С.

Для определения безвредности антигена его вводили пяти белым мышам массой 16-18 г. по 0,5 см ^{3} подкожно в области спины и пяти морским свинкам по 3 см^{3}, также подкожно, но в области живота. За животными вели наблюдение в течение 10 суток.

К эшерихиям и сальмонеллам весьма чувствительными лабораторными животными являются белые мыши. Поэтому мы использовали их в качестве тест-модели при определении активности ассоциированного антигена. Мышей в опыт подбирали по принципу аналогов, массой 18-20 г. Активность антигена в отношении эшерихий определяли следующим образом. Антиген мышам вводили подкожно, однократно в дозах 0,1; 0,2 и 0,3 см^{3}, используя на каждую дозу по 10 животных. Спустя 2-3 часа после инъекции антигена иммунизированных мышей заражали заранее под титрованной смертельной дозой *E.coli* 078. Одновременно с мышами, получившими антиген, заражали 10 интактных животных, которые служили контролем. За мышами вели наблюдение, и окончательный учет результатов осуществляли через 5 дней после гибели не менее 8 контрольных животных.

Активность в отношении сальмонелл определяли аналогичным образом. Мышам вводили антиген в дозах: 0,1; 0,2; 0,3 см^{3}. На каждую дозу использовали по 10 мышей. Заражение опытных и контрольных животных провели агаровой культурой *Sal. dublin* 373.

Окончательный учет результатов проводили после гибели в контроле не менее чем 8 мышей.

Результаты исследований. Эшерихии и сальмонеллы с морфологической точки зрения представляли собой палочки с закругленными концами, были грамотрицательными, располагались в препаратах одиночно, беспорядочно, небольшими скоплениями. В МПБ упомянутые бактерии при росте и размножении вызывали помутнение среды и образование на дне пробирки осадка серо-белого цвета.

В полужидком агаре микроорганизмы интенсивно росли по уколу и менее интенсивно – по всей массе среды, что свидетельствует об их подвижности.

На МПА эшерихии и сальмонеллы образовывали колонии величиной от 2 до 4 мм. Колонии в S-форме имели круглую форму, ровные края, были выпуклыми, сочными, серо-белого цвета. На агаре Эндо эшерихии формировали колонии темно-вишневого цвета с металлическим блеском, на среде Плоскирева – розового цвета, на висмут-сульфитном агаре – серо-белого цвета. Сальмонеллы образовывали на агаре Эндо нежные розоватые колонии, на среде Плоскирева – прозрачные с голубоватым оттенком, а на висмут-сульфитном агаре – черные с металлическим блеском.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Производственные штаммы эшерихий ферментировали глюкозу, лактозу, маннит, мальтозу, галактозу, сорбит, ксилозу, арабинозу, образовывали индол и не выделяли сероводород. В РА бактерии проявляли высокую агглютинабельность с гомологичными диагностическими сыворотками, вступая в реакцию до их титра.

Биохимическая активность сальмонелл характеризовалась способностью их ферментировать глюкозу, маннит, сорбит, арабинозу, дульцит. Однако они не расщепляли лактозу, сахарозу, салицин, адонит, не выделяли индола, но образовывали сероводород. При контроле антигенной структуры сальмонелл в РА диагностическими сыворотками было установлено, что производственные штаммы этих бактерий являются типичными для определенного рода, вида и сероварианта.

Результаты определения биологических свойств производственных штаммов эшерихий и сальмонелл свидетельствуют об их пригодности для приготовления ассоциированного антигена.

При проверке стерильности антигена установлено отсутствие видимого роста бактерий в средах, на которые он был высеян, т.е. приготовленный антиген оказался стерильным.

Проверка антигена на безвредность выявила его безвредность для лабораторных животных, т.е. мыши и морские свинки, которым инъецировали антиген, оставались клинически здоровыми на протяжении 10 дней наблюдения за ними.

В результате контроля антигена на активность в отношении эшерихиозного компонента установили, что антиген в дозе 0,1 см^3 защищал от гибели 4-5 мышей из 10, взятых в опыт, в дозе 0,2 см^3 и 0,3 см^3 8-9 особей при падеже не менее 8 мышей в контрольной группе.

При контроле активности в отношении сальмонеллезного компонента в ассоциированном антигене были получены следующие результаты. Антиген в дозе 0,1 см^3 предохранял от гибели 3-4 мышей, в дозе 0,2 см^3 – 7-8 мышей, а в дозе 0,3 см^3 – не менее 9-10 мышей при гибели не менее 9 особей в контроле.

Заключение. Результаты определения биологических свойств производственных штаммов эшерихий и сальмонелл позволяют заключить, что они по своим морфологическим, тинкториальным, культуральным, ферментативным, антигенным признакам соответствуют определенному роду, виду и серогруппе бактерий и, следовательно, пригодны для приготовления ассоциированного антигена. Поэтому из производственных штаммов эшерихий и сальмонелл нами выращена бакмасса этих бактерий, из которой составлен ассоциированный антиген. Приготовленный антиген оказался стерильным, безвредным, активным, т.е. пригодным для гипериммунизации волов-продуцентов с целью получения от них ассоциированной поливалентной сыворотки против эшерихиоза и сальмонеллеза телят.

Литература. *1. Ветеринарные препараты : Справочник / сост. Ю. Ф. Борисевич, Л. В. Кириллов, под ред. Д. Ф. Осидзе – М. Колос, 1981. -448 с. 2. Курс лекций по частной ветеринарной микробиологии: учеб. - метод. пособие для студентов по специальности 1-74.03.04. «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. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук. – Новосибирск. - 1980. – 14 с. 5. Пирожков, М. К. Иммунопрофилактика эшерихиоза молодняка сельскохозяйственных животных / М. К. Пирожков, Ю. А. Малахов, О. А. Тугаринов // Матер. научн. конфер., посвященной 50-летию Краснодарской НИВС, Краснодар. - 1996. - С. 89-90. 6. Солонеко, А. А. Практикум по частной микробиологии / А. А. Солонеко, А. А. Гласкович, В. Н. Алешкевич. – Минск, «Урожай». - 2000. - 250 с. 7. Тугаринов, О. А. Средства и методы специфической профилактики, лечения и диагностики эшерихиоза животных / дис. на соиск. ст. докт. вет. наук. – Москва, 1998, - 416 с. 8. Частная эпизоотология : учебное пособие для студентов высших учебных заведений / В. В. Максимович [и др.] под ред. В. В. Максимович. – Минск : ИВЦ Минфина, 2010. - 628 с. 9. Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «ветеринарная медицина» / А. В. Максимович [и др.] под ред. В. В. Максимовича – Минск : ИВЦ Минфина, 2012. – 776 с. 10. Медведев, А. П., Вербицкий, А. А. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток / А. П. Медведев, А. А. Вербицкий. - Витебск : ВГАВМ, 2010. – 200 с. 11. Карпуть, И. М. Иммунная реактивность и болезни телят : монография / И. М. Карпуть, С. Л. Борознов. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 289 с.*

Статья передана в печать 22.04.2019 г.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ