

Группа бактериальных ЛПС и их синтетических аналогов относятся по классификации А.В. Никитина и С.М.Навашина (1983) к иммуномодуляторам природного происхождения.

Исследованию свойств и механизма ЛПС, выделенных из разных бактерий, посвящено большое число публикаций.

Цель нашей работы – оценка токсического и алергизирующего действия липополисахаридпептидных фракций (ЛПП-Ф) сальмонелл, полученных разными способами.

Для получения ЛПП-Ф использовали производственные штаммы сальмонелл: *S. enteritidis*, *S. pullorum-gallinarum* и *S. typhimurium*. ЛПП-Ф сальмонелл получали согласно НТД и по усовершенствованному нами методу из химически модифицированной биомассы бактерий.

Опыты проводили на белых мышах массой 10-12 г (питомник «Рамполово»).

Токсичность препаратов оценивали в тесте изменения массы тела мышей на 7-й день после инъекции препарата. Острую токсичность определяли при однократном внутрибрюшинном введении различных доз каждого препарата (1 см<sup>3</sup>, 0,5 см<sup>3</sup>, 0,25 см<sup>3</sup> и 0,1 см<sup>3</sup> мышь). Учет гибели мышей проводили через 1, 24 часа и 7 суток.

Хроническую токсичность изучали в условиях 10-кратного ежедневного подкожного введения препарата. При этом регистрировали массу тела животных и симптомы интоксикации. Наблюдения проводили в течение всего периода введения препаратов (10 суток) и в течение последующих 7 суток.

Длительность жизни каждого животного рассчитывали от момента введения препарата до его гибели. Определяли среднюю длительность жизни мышей опытной и контрольной групп и достоверность различий между показателями.

Гистаминсенсibiliзирующую и лейкоцитостимулирующую активность (соответственно ГСА и ЛСА) изучали общепринятыми методами на белых мышах.

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами.

Оценка токсических свойств препаратов дала следующие результаты. При оценке «острой» токсичности установлено, что препарат ЛПП-Ф, приготовленный по предлагаемому способу и инъецированный белым мышам в дозе 0,5 см<sup>3</sup> мышь через 1 и 7 суток гарантировал выживаемость животных соответственно на 100 и 92,2%. В то же время, препарат, полученный по известному способу, только при введении в дозе 0,1 см<sup>3</sup> мышь гарантировал высокую выживаемость животных.

В тесте оценки «хронической» токсичности при ежедневном подкожном введении 0,05 см<sup>3</sup> мышь наблюдалось увеличение массы тела животных, как через 24 часа, так и на 7-е сутки после 10-й инъекции предлагаемого препарата. При введении предлагаемого препарата признаков выраженной интоксикации, а также гибели животных на протяжении всего срока наблюдения (17 суток) не установлено.

Данные опытов свидетельствуют о том, что предлагаемый препарат не токсичен. К 7 суткам наблюдения масса тела подопытных животных, получавших данный препарат, значительно превышала исходную массу, а относительный прирост массы тела этих животных по сравнению с таковыми в контроле (ПМТК) составил более 90%. Процент отека лап в группах животных, инокулированных предлагаемым препаратом, колебался от 3,9 до 8,5%.

Через 7 суток после последнего введения известного препарата в дозах 0,05 и 0,1 см<sup>3</sup> мышь ПМТК составил соответственно 91,4 и 68,8 %.

Таким образом, разработанный нами способ получения иммунокорректирующего препарата на основе ЛПП-Ф сальмонелл открывает перспективу создания нового безвредного препарата для профилактики и лечения иммунодефицитов у животных.

УДК 619.579.842.11

## ПОЛУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНОГО АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЯ КОЛИБАКТЕРИОЗА

Зайцев В.В., Дремач Г.Э., Кучеров А.Л.

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

Причиной заболевания поросят и телят колибактериозом и их гибели в течение 2 недель после опороса или отела в 80% случаев является неонатальная колидиарея (Nigrelli et al., 1984).

Более чем в 90% случаев неонатальную колидиарею вызывает кишечная палочка энтеропатогенных штаммов с адгезивными антигенами K88, Ф41, K99 и P987.

С помощью адгезинов бактерии прикрепляются к эпителиальным клеткам верхних участков кишечных ворсинок; в криптах, как правило, эшерихии не обнаруживаются.

В настоящее время в определении патогенности эшерихий ключевую роль отводят наличию адгезинов. Раньше было принято считать, что адгезины штаммоспецифичны. Однако в последние годы показано, что бактерии одного штамма могут иметь адгезины нескольких типов.

Адгезивно-антигенный состав эшерихий может изменяться в процессе субкультивирования. В кишечнике животного происходят изменения в составе типов адгезинов под влиянием иммуноглобулинов и других факторов, при вакцинации -- в зависимости от антигенного набора вакцин можно, ингибируя у эшерихий одни адгезины, стимулировать образование других штаммов с идентичными генетическими детерминантами (Шишков В.П. с соавт., 1988).

Адгезины выполняют функцию якоря, способствуют колонизации бактерий в кишечнике. При фиксации на слизистой оболочке бактерии выделяют энтеротоксин в клетки хозяина, метаболизм их изменяется, ухудшается всасываемость. В просвете кишечника накапливается повышенное количество жидкости, что приводит к диарее, дегидратации, ацидозу и гибели животного.

Адгезины *in vivo*, как правило, видоспецифичны, т.е. у каждого вида животных, у которых наблюдаются признаки колибактериоза, преобладают определенные, свойственные данному виду животных антигены (штаммы).

Так, для поросят патогенны штаммы *E. coli*, продуцирующие адгезины K88 и P987. Штамм K88 наиболее патогенен: способен продуцировать как термолabile, так и термостабильные энтеротоксины в отдельности или в комбинации.

Установлено, что образование антигена K88 связано и кодируется плазмидой K88. Способность образовывать антиген K88 можно передать от одного штамма к другому.

Создание вакцины на основе адгезин-антигенов с целью формирования адгезивного иммунитета обеспечивает защиту животного от колиинфекции на стадии прикрепления патогенных бактерий к эпителиальным клеткам слизистой кишечника.

На основании проведенного мониторинга в Республике Беларусь установлено, что ведущая роль в развитии колибактериоза телят принадлежит эпизоотическим штаммам эшерихий с адгезивными антигенами K88, Ф41, K99, а поросят -- токсинообразующим эшерихиям с адгезивными антигенами K88, Ф41 и P987.

На основании вышеизложенного нами были получены и изучены препараты адгезинов K88, K99, Ф41 и P987.

Эшерихий культивировали на питательных средах, приготовленных по определенной рецептуре на основе гидролизатов компонентов крови, мясокостной муки, белков сыворотки молока.

Из биомассы эшерихий получали адгезины с помощью ферментов, щелочной обработки и экстрагирующего буфера. Полученные адгезины очищали и концентрировали на ультрафильтрационной установке «Владисар», стандартизировали и использовали в качестве компонента вакцины.

В состав антигенов вводили адъюванты: гидроокись алюминия, монтанид, аэросил. Кроме того антигены инкорпорировали в полимерный носитель.

В опыте использовали 40 кроликов. Приготовленные препараты адгезивных антигенов вводили кроликам массой 2,5-3,0 кг. Каждому кролику препарат вводили подкожно, однократно в дозе 1,0 см<sup>3</sup>. Через 25-28 суток после введения поливалентного адгезивного антигена у кроликов из ушной вены брали кровь в объеме 5-8 см<sup>3</sup>, получали из нее сыворотку, которую исследовали в реакции агглютинации (РА). Каждую пробу сыворотки разводили физраствором ступенчато с кратностью 2 от 1:25 до 1:1600. Пробирки, содержащие смесь сыворотки с антигеном, помещали в термостат и выдерживали в течение 18 часов при температуре 36-38<sup>0</sup>С. Об иммуногенных свойствах препаратов судили по величине титров антител.

Титр антител к адгезивным антигенам у кроликов, привитых поливалентным антигеном, был на одном уровне.

Изложенные результаты исследования свидетельствуют о том, что субклеточный поливалентный препарат адгезинов может быть использован для повышения эффективности противобактериозных вакцин.

#### Литература

1. Современная биотехнология в ветеринарной медицине / В.П. Шишков и др. -- М., 1988. -- С. 58.
2. Epidemiology of *E. coli* infections in piglets in Northern Italy / Nigrelli A.D. et al. // *Clinica Veterinaria*. -- 1984. -- V. 107, N 2. -- P. 41-45.