

Таблица 3 - Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов крови птиц, вакцинированных против ИЛТ (M±m, P)

Группы птиц	Процент фагоцитоза	Фагоцитарный индекс	Фагоцитарное число	Процент переваривания	Индекс переваривания
на 3-й день после вакцинации					
1 группа	84,50±5,06 P ₁₋₂ >0,05	3,60±0,39 P ₁₋₂ <0,05	4,23±0,37 P ₁₋₂ >0,05	45,75±5,34 P ₁₋₂ >0,05	1,78±0,11 P ₁₋₂ >0,05
2 группа	73,25±8,71	1,58±0,48	2,35±0,76	55,50±3,65	2,10±0,28
на 7-ой день после вакцинации					
1 группа	56,00±7,87 P.<0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,80±0,79 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	4,80±0,90 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	56,50±3,65 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,63±0,59 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05
2 группа	64,00±4,49 P.>0,05	3,03±0,59 P.>0,05	4,70±0,56 P.<0,05	52,75±7,30 P.>0,05	2,50±0,45 P.>0,05
на 14-й день после вакцинации					
1 группа	66,50±3,37 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,10±0,20 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	3,05±0,06 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	57,75±3,93 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,50±0,17 P.>0,05 P ₁₋₂ <0,01
2 группа	68,37±3,37 P.>0,05	2,15±0,08 P.>0,05	3,08±0,11 P.<0,05	57,25±4,21 P.>0,05	1,43±0,20 P.>0,05
на 21-й день после вакцинации					
1 группа	77,00±5,34 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	1,68±0,37 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,93±0,20 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	48,75±5,34 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	1,65±0,39 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05
2 группа	74,25±8,71 P.>0,05	1,20±0,48 P.>0,05	2,18±0,37 P.<0,05	53,25±6,18 P.>0,05	1,90±0,31 P.>0,05
на 28-ой день после вакцинации					
1 группа	61,25±4,21 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	1,65±0,31 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	2,78±0,48 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	54,00±8,71 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05	1,88±0,28 P.>0,05 P ₁₋₂ >0,05
2 группа	55,75±4,78 P.>0,05	1,40±0,17 P.>0,05	2,48±0,45 P.>0,05	50,00±5,90 P.>0,05	1,93±0,25 P.>0,05

Примечание: P₁₋₂ – 1 – 2 группы;

P. – по сравнению с предыдущим сроком исследования.

Литература: 1. Алексеева, О.Г. Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов крови в токсикологических экспериментах / О.Г. Алексеева, А.Г. Волкова // Гигиена и санитария. – 1966. – № 8. – С. 70-75. 2. Бабкин, В.Ф. Инфекционный ларинготрахеит птиц (разработка инактивированных вакцин, методов диагностики та системы противепизоотических заходів): автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.03 / В.Ф. Бабкин; Институт экспериментальной і клінічної ветеринарної медицини. – Харків, 1996. – 30 с. 3. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / Б.У. Кэлнек [и др.]; под ред. Б.У. Кэлнека, Х. Джона Барнса, Чарльза У. Биерда и др.; пер. с англ. И. Григорьева, С. Дорош, Н. Хрущева, И. Суворцев. – М.: АКВАРИУМ БУК, 2003. – С. 608-622 4. Болотников, И.А. Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев. – Ленинград: Наука, 1980. – С. 66-89. 5. Иванова, А.М. Методики определения поглотительной и переваривающей способности нейтрофилов / А.М. Иванова, Б.А. Чухловин // Лабораторное дело. – 1967. – № 10. – С. 610-614. 6. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Мн.: Ураджай, 1986. – С. 16-18. 7. Коленкин, С.М. Основные правила исследования пункта костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – №2. – С.41-43. 8. Луппова И.М. Иммуноморфогенез у кур, вакцинированных против Ньюкаслской болезни / А.М. Иванова, И.М. Луппова // Витебск, 1998. – 18 с. 9. Лях, А.Л. Влияние иммуностимулятора натрия тиосульфата на иммуноморфогенез при парентеральной вакцинации гусят против пастереллеза: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.02 / А.Л. Лях, УО ВГАВМ. – Витебск, 2003. – 21 с. 10. Прудников, В.С. Иммуноморфогенез у животных, перорально вакцинированных против сальмонеллеза, и влияние на него иммуностимуляторов: автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.02 / В.С. Прудников; Ленингр. вет. ин-т. – Ленинград, 1991. – 36 с.

УДК 619:616.98:579.843.95:615.37:636.4

ВЫБОР МАСЛЯНОГО АДЪЮВАНТА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

*Гусев А.А., **Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.

*РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского НАН Беларуси»

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

Статья включает экспериментальные данные о стерильности, безвредности, иммуногенности и реактогенности опытных серий инактивированных эмульсионных вакцин против пастереллеза свиней с различными адъювантами.

The article contains research data on sterility, safety, immunogenicity and reactivity of the test batch of inactivated emulsine vaccines with different adjuvants against porcine pasteurellosis.

Введение. Несмотря на обилие биопрепаратов, используемых в настоящее время для профилактики и борьбы с пастереллезом, данное заболевание актуально и по настоящий день. По данным ветеринарной отчетности Республики Беларусь, среди всех заразных патологий сельскохозяйственных животных пастереллез занимает третье место по количеству выявленных зараженных животных. Так, по данным за 2000 – 2006 года в Республике Беларусь было выявлено неблагополучных пунктов соответственно – 36, 56, 58, 49, 32, 39 и 39. Это свидетельствует о том, что применяемые в настоящее время препараты для профилактики пастереллеза свиней не всегда приносят ожидаемый эффект.

Возбудителем пастереллеза свиней является *P. multocida* (капсульные серовары А, В, D, Е, при этом серовары D и Е вызывают острое течение болезни (геморрагическую септицемию), а серовары А и В – затяжное течение (инфекционную анемию) [7].

Первые сведения о возникновении пастереллеза на территории Беларуси датируются 1912 г., когда Н.И. Эскерт и В.В. Федерс зарегистрировали и дали подробное описание пастереллеза среди диких кабанов в Беловежской пуще. В свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь пастереллез впервые был отмечен в 1945 году, при этом был выявлен один неблагополучный пункт, в котором было выявлено одно больное животное [8]. Затем наблюдается медленный рост количества случаев заболевания животных пастереллезом вплоть до 1950 года, когда было выявлено 56 неблагополучных пунктов. С 1950 года наблюдается резкое увеличение количества случаев заболевания животных. Это дало толчок к развитию средств борьбы и профилактики данного недуга.

Несомненно, важное место среди мер борьбы с пастереллезом занимает вакцинопрофилактика [1, 3, 6]. Для профилактики заболевания применяют живые и инактивированные вакцины. Живые вакцины часто обладают остаточной вирулентностью и реактогенностью, инактивированные свободны от этих недостатков, однако имеют более низкую иммуногенность за счет действия инактиванта, повреждающего антигенные структуры клеток микроорганизмов [4, 5]. Для повышения иммуногенности инактивированных вакцин применяют масляные адъюванты.

В настоящее время широкое применение получили инактивированные вакцины, в том числе и вакцины против пастереллеза свиней.

Для активной иммунизации свиней против пастереллеза используют следующие вакцины: инактивированные моновалентные, имеющие в своем составе серовар В (преципитированная для овец и свиней; масляная для жвачных и свиней; ассоциированная против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней). Так же применяют поливалентные вакцины, содержащие пастереллы трех (А,В,Д) сероваров – эмульгированная и гидроокисьалюминиевая для свиней; масляная для жвачных и свиней; ассоциированная против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней [3].

Эмульсин-вакцины создают длительный иммунитет, продолжительность которого зависит от масляного адъюванта, препятствующего быстрому всасыванию вакцины и таким образом создающего депо специфического антигена в организме на месте введения. Использование сильно реактогенного масла приводит к нежелательному эффекту - на месте введения образуются медленно заживающие раны [2].

Таким образом, подбор масляного адъюванта для приготовления вакцины является достаточно важной задачей.

Материалы и методы Материалы – штаммы *P. multocida* 14; 655; 656 и 877 в качестве антигена; эмульсин-вакцина; адъюванты ISA 70, ISA 206, продукт 139; 160 белых мышей; сывороточный агар.

Все исследования были подразделены на несколько этапов.

На первом этапе были приготовлены опытные образцы 3-х эмульсин-вакцин, в состав которых вошли штаммы *P. multocida* 14; 655, 656 и 877 в качестве антигена. В качестве масляной основы были использованы три разных адъюванта. Для приготовления первой вакцины в качестве масляной фракции использовали французский адъювант ISA 70. Для второй использовали ISA 206. Для 3-й экспериментальной вакцины использовали отечественную разработку – продукт 139.

Для приготовления вакцин инактивированные бактериальные штаммы центрифугировались. Использовали полученный осадок, который ресуспензировали до концентрации 30 миллиардов микробных клеток в одном сантиметре кубическом вакцины. Затем приготовили эмульсию из расчета 40% антигена и 60% масляного адъюванта.

При приготовлении вакцины с продуктом 139 первоначально брали продукт 139 по отношению к маслу в массовой доле соответственно 2,5% продукта 139 и 97,5% масла. В дальнейшем так же готовили эмульсию из расчета 40% антигена и 60% масляного адъюванта. Все манипуляции проводились в условиях УП «Витебская биофабрика».

Полученные экспериментальные образцы вакцин проверяли на стерильность, определяли безвредность, реактогенность и иммуногенность

Стерильность полученных препаратов проверяли путем посева на МПА, МПБ, среду Сабуро и Китатароци. Безвредность опытных образцов определяли на белых мышах путем подкожного введения им вакцин в дозе 0,5 мл на животное.

Реактогенность проверили гравиметрическим методом. Для этого было сформировано 6 групп животных (по 5 мышей в каждой) – по 2 группы на каждую вакцину. По 2 группы животных формировали с той целью, что реактогенность биопрепаратов проверяли через 24 часа после введения вакцины, а также на 10 сутки с момента введения препарата.

Животным каждой группы вводили в пяточную поверхность задней лапки вакцину в дозе 0,05 мл. Зад-

няя лапка, в которую вакцину не вводили, служила контролем.

Мышей первых трех групп через 24 часа после введения вакцин усыпили хлороформом, после чего отрезали на уровне скакательного сустава лапки. Затем собрали общие пробы – пять опытных и пять контрольных лапок – и взвесили. Реагтогенность считали по разнице в весе лапок. Точно такие же манипуляции провели с мышами остальных трех групп через 10 дней после введения вакцин.

Иммунную активность опытных вакцин проверили на лабораторных животных. Для этого было сформировано 13 групп мышей по 10 животных в каждой. Для проверки иммуногенности для каждой вакцины использовали по 4 группы животных (всего 12 групп). 13-я группа служила контролем. Животных первой группы иммунизировали подкожно в дозе 0,025 мл вакцины на животное. Мышей второй группы иммунизировали в дозе 0,05 мл на животное. Животным 3-й и 4-й групп вакцину вводили соответственно в дозах 0,1 и 0,2 мл подкожно. В таких же дозах были иммунизированы животные оставшихся групп вакциной с другими адьювантами. Животным контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида. Затем за мышами велось наблюдение. На 21-й день после вакцинации животных всех групп подвергли экспериментальному заражению.

Для заражения использовали тест культуру пастерелл, из которой делали посев на глюкозо-сывороточный агар. Через 24 часа делали смыв культуры и доводили до концентрации 1 млрд. микробных клеток в 1 мл суспензии (по стандарту мутности). Далее, путем последовательных разведений, довели содержание микробных клеток до 100 тыс. в 1 мл суспензии. Данную суспензию, вводили мышам подкожно в дозе 0,2 мл. Затем в течение 2-ух недель велось наблюдение за животными. Павших животных подвергали вскрытию. Из внутренних органов делали посева и мазки отпечатки.

Результаты. За период наблюдения в посевах из вакцин рост отсутствовал. При определении безвредности все подопытные животные оставались живыми на протяжении всего опыта.

Результаты определения реагтогенности отражены в таблице 1.

Как видно из таблицы если разница в весах лапок при первом исследовании (через 24 часа с момента введения вакцины) в группах была не значительной и лежала в пределах от 0,5393 (ISA 70) до 0,8545 (продукт 139), то при втором исследовании (на 10 сутки после введения вакцины) разница уже колебалась от 0,4341 (ISA 206) до 1,392 (продукт 139). Вес опытных лапок (вакцина с адьювантом продукт 139) превышал вес контрольных лапок в 3,21 раза, тогда как при использовании других адьювантов разница в весе опытных и контрольных лапок, что через 24 часа, что на 10-ые сутки не превышала более чем в 2 – 2,1 раза.

Таблица 1. Показатели реагтогенности эмульсин-вакцин в сочетании с различными адьювантами.

Адьювант	Через 24 часа (г)			На 10 сутки (г)		
	О.л	З.л	Разница в весе	О.л	З.л	Разница в весе
ISA 70	1,1976	0,6583	0,5393	1,0064	0,5402	0,4662
ISA 206	1,4683	0,7337	0,7346	0,9268	0,4927	0,4341
Продукт 139	1,5020	0,6475	0,8545	2,0207	0,6287	1,392

Где О.л. – опытные лапки, З.л. – здоровые лапки (вес лапок определяли с помощью аналитических весов).

Как видно из проведенного опыта наибольшей реагтогенностью обладает вакцина на основе продукта 139 и она гораздо выше на 10-й день после введения вакцины, в то время, как наименьшей реагтогенностью через 24 часа после введения обладает вакцина с адьювантом ISA 70, а на 10 сутки – вакцина с ISA 206 ($P > 0,05$).

Результаты изучения иммуногенной активности приведены в таблице 2.

Как видно из указанной таблицы и рисунка, наилучшие показатели сохранности мышей наблюдаются в тех группах, где вакцина применялась в дозе 0,1 – 0,2 мл на животное. Так, в группе, для вакцинации которой применяли эмульсин-вакцину в сочетании с ISA 70 в живых к концу опыта осталось 9 из 10 животных (при дозах 0,1 – 0,2 мл), в то время как при меньших дозах (0,025 мл и 0,05 мл) выжило соответственно 60 и 70% животных. При вакцинации мышей с адьювантом ISA 206 в дозе 0,025 мл выжило только 5 животных (половина группы), а при вакцинации в дозе 0,05 мл выжило 60% мышей, а при дозах 0,1 и 0,2 мл по 100%.

Если аналогично сравнивать и продукт 139, то сохранность животных составила соответственно – 70, 80, 90 и 100% в зависимости от дозы применения эмульсин-вакцины.

Животные контрольной группы пали все.

Как видно из полученных результатов, все адьюванты обеспечивают максимальную защиту при применении их в дозе 0,2 мл на животное (ISA 206 и продукт 139 – 100%, ISA 70 – 90%). Использование вакцины в дозе 0,025 мл на животное – сохранность мышей в группах варьирует от 50% (ISA 206) до 70% при вакцинации с адьювантами ISA 70 и продукт 139. Применение вакцины в дозе 0,05 мл на животное увеличивает количество выживших мышей при использовании ISA 206 до 60% и 80% с продуктом 139.

При использовании дозы 0,1 мл на животное обеспечило полное отсутствие падежа только в группе, вакцинированной с адьювантом ISA 206. В тоже время, остальные адьюванты обеспечили защиту на 90% (9 из 10 животных выжили).

Из проведенных исследований видно, что наиболее приемлема к применению на свиньях вакцина с адьювантом ISA 206, которая обладает наименьшей реагтогенностью и, в то же время, обеспечивает 100% сохранность животных в группе уже при дозе 0,1 мл на животное.

Заключение. Приготовленные нами опытные образцы вакцин с различными адьювантами (ISA 70, ISA 206, продукт 139) оказались стерильными и безвредными.

При определении реагтогенности выяснилось, что наименьшей реагтогенностью обладает вакцина с

адьювантом ISA 206. Наименее приемлемым вариантом в этом отношении оказалась вакцина на основе продукта 139. Изучение иммуногенной активности приготовленных вакцин показало, что наиболее максимальную защиту животных обеспечивают препараты с адьювантами ISA 206 и продуктом 139.

Вывод: Наиболее приемлемым для приготовления вакцины против пастереллеза свиней является адьювант ISA 206. Эмульсин-вакцина с данным адьювантом обладает слабой реактогенностью и высокой иммуногенностью, обеспечивающей 100%-ю защиту белых мышей от пастереллеза в дозе 0,1 мл на животное.

Таблица 2. Иммуногенность эмульсин-вакцин.

Адьювант	Доза (мл)	Животных в группе	Выжило	Пало	% выживаемости
ISA 70	0,025	10	6	4	60
	0,05	10	7	3	70
	0,1	10	9	1	90
	0,2	10	9	1	90
ISA 206	0,025	10	5	5	50
	0,05	10	6	4	60
	0,1	10	10	0	100
	0,2	10	10	0	100
Продукт 139	0,025	10	7	3	70
	0,05	10	8	2	80
	0,1	10	9	1	90
	0,2	10	10	0	100
контроль	-	10	0	10	0

Литература: 1. Иммуногенность вакцин против пастереллеза свиней / Р.В. Душук [и др.] // Ветеринария. – 1997. - №10. – С. 18 – 20. 2. Иммуногенные свойства штаммов *Pasteurella multocida* / В.В. Каширин // Ветеринария. -1995. - №10. – С. 25 – 29. 3. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов / Н.Б. Бушуева, М.Я. Ярцев // Ветеринария. – 1997. - №11. – С. 23 – 25. 4. Лабораторные испытания инактивированной эмульгированной вакцины против пастереллеза птиц / Б.Я. Бирман, Р.П. Лизун // Птицеводство Беларуси. – 2002. - №3. – С. 18 – 20. 5. Получение аттенуированного штамма *P. multocida* / А.В. Леонов, В.В. Гусев // Ветеринария. – 2004. - №10. – С. 23 – 26. 6. Профилактика пастереллеза сельскохозяйственных животных на современном этапе / Н.Н. Андросик, Ю.Г. Лях // Весці акадэміі аграрных навук Рэспублікі Беларусь. – 2000. - №4. – С. 62 – 64. 7. Совершенствование специфической профилактики пастереллеза / В.Е. Заерко, В.И. Ситьков, И.К. Тутов // Ветеринария. – 2000. - №6. – С. 20 – 22. 8. Сравнительное изучение эффективности противопастереллезной вакцины для свиней / Х.В. Саркисян [и др.] // Ветеринарная патология. – 2003. - №1. – С. 135 – 138. 9. Эпизоотическая ситуация и прогноз по пастереллезу свиней в Республике Беларусь / Ю.Г. Лях // Ветеринарная патология. – 2003. - №1. – С. 137 – 139.

УДК 619:616.98:579.842.14:615.373

СЫВОРОТКА ПОЛИВАЛЕНТНАЯ АНТИТОКСИЧЕСКАЯ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ, ПОРОСЯТ И ПТИЦ (ПОЛУЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ)

Даровских С.В.

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

В статье автором изложена информация по получению нового препарата для пассивной иммунизации животных и птиц против сальмонеллеза, содержащего в своем составе антитела против тех серовариантов сальмонелл, которые наиболее часто выделяются в хозяйствах РБ. Также описаны методы заключительного контроля на разработанный биопрепарат.

The article features the data on a new compound for preventive immunization of animals and birds against salmonellosis which contains antibodies against the serovars most frequently isolated in the farms. The methods for conclusive control of the compound has been described.

Введение. Эффективность развития животноводства в значительной мере зависит от эпизоотической ситуации по инфекционным болезням, особенно вызываемым условно-патогенной микрофлорой, на долю которых в Республике Беларусь приходится 89,9% от количества неблагополучных пунктов. Среди этих заболеваний особое место занимает сальмонеллез, который наносит значительный экономический ущерб животноводству.

Проблему сальмонеллеза ставят в ряд важнейших ветеринарных и медико-экологических проблем. Это связано с увеличением числа серологических вариантов возбудителей, обнаруженных у сельскохозяйственных животных, птиц и людей, контаминацией сальмонеллами пищевых продуктов животного происхождения и различных объектов внешней среды. Расширился спектр типов бактерий циркулирующих среди поголовья различных видов животных и птиц.