

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 инаktivированной 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.

Отслеживание эпизоотической ситуации, определение этиологической структуры сальмонеллеза – необходимое условие и основание для конструирования новых и совершенствования применяющихся специфических препаратов для лечения и профилактики болезни. При изучении литературных источников и анализе ветеринарной отчетности за последние пять лет было выявлено, что в Республике Беларусь наиболее часто сальмонеллез у телят, поросят и птиц вызывали следующие сероварианты сальмонелл: *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*. На долю других сальмонелл (*S.london*, *S. humber*, *S. cholerae suis*, *S. pullorum-gallinarum* и др.) выделяемость бактерий была весьма незначительна.

В настоящее время для специфической пассивной профилактики и лечения применяют антитоксическую поливалентную сыворотку против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят и птиц. Этот препарат получают на УП «Витебская биофабрика» путем гипериммунизации волов-производителей поливалентным антигеном, не содержащим в своем составе антител против тех серовариантов сальмонелл, которые наиболее часто выделяются в различных хозяйствах РБ, что является одной из причин низкой эффективности данного биопрепарата.

В этой связи целью нашей работы явилась разработка и получение сыворотки для профилактики и лечения сальмонеллеза животных и птиц, содержащей в своем составе антитела против тех серовариантов сальмонелл, которые наиболее часто выделяются в РБ (*Salmonella cholerae suis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella enteritidis*).

Материалы и методы. Совместно сотрудниками кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ, и УП «Витебская биофабрика» разработана и выпущена опытная серия препарата «Сыворотка поливалентная антитоксическая против сальмонеллеза телят, поросят и птиц».

Получение гипериммунной сыворотки представляет собой сложный и поэтапный процесс. Вначале отобрали волов, будущих производителей препарата. На следующем этапе мы сконструировали новый антиген, в который входили следующие штаммы сальмонелл: *Salmonella cholerae suis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella enteritidis*.

Производственные штаммы сальмонелл (*S. cholerae suis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373) были получены на УП «Витебская биофабрика». К производственным штаммам прилагаются паспорта, в которых дана полная характеристика микроорганизмов. Штаммы хранились в сухом виде в ампулах. Производственные штаммы сальмонелл перед использованием проверили на чистоту и изучили их биологические свойства, которые соответствовали паспортным данным.

Культура *Salmonella enteritidis* была выделена из патматериала при проведении бактериологических исследований на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Были изучены ее морфологические, культуральные, ферментативные, патогенные и антигенные свойства. На полученный штамм был выдан паспорт Всероссийским Государственным Центром качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов г. Москва.

Проверенные культуры, каждую отдельно, засеивали в баллоны содержащие бульон Хоттингера и культивировали при 36-37°C в течение 10-12 часов. Параллельно проводили контроль чистоты роста. Полученную матровую расплодку проверяли на чистоту роста, микроскопированием мазков, окрашенных по Граму. Затем полученные культуры сальмонелл смешивали в одной емкости в соотношении 1:1 и добавляли формалин (содержание формальдегида не менее 36%), выдерживали в термостате 25-30 суток при 36-37°C, с целью инактивации.

Далее провели сорбцию антигена с помощью 4%-ного раствора гидроокиси алюминия в течение 2-3 суток при 18-20°C. После отстоя готовый антиген концентрировал до 10 млрд. микробных клеток путем декантации надосадочной жидкости. Полученный антиген проверяли на стерильность путем посева на МПА, МПБ, среду Китта-Тароцци и Сабура, а также измеряли pH. Для контроля безвредности антиген вводили подкожно 5 белым мышам массой 16-18 г. в дозе 0,5 см³. Проверенный антиген использовали для гипериммунизации волов.

Волам полиантиген вводили внутривенно, поочередно с двух сторон туловища в области голодной ямки, соблюдая правила асептики и антисептики. Схема иммунизации включала 4 инъекции, с интервалом 5 суток, в дозах 5, 10, 15 и 20 см³ соответственно. За всеми животными вели ежедневное наблюдение, контролируя их состояние после каждой инъекции. Измерение температуры тела проводили перед и после каждой инъекции антигена, а также перед взятием крови.

Спустя 20 суток провели забор крови у иммунизированных производителей из расчета 16 см³ на кг живой массы. Для предохранения крови от свертывания применяли антикоагулянт (10%-ный раствор натрия лимоннокислого).

На следующем этапе полученную кровь сепарировали, чтобы отделить форменные элементы крови и получить плазму. Полученную плазму дефибринировали в дефибринаторе с добавлением 30%-ного раствора хлористого кальция.

Полученную сыворотку консервировали 5%-ным раствором фенола, до содержания его в препарате не более 0,5%.

Далее готовую сыворотку подвергали отстою в отстойниках на протяжении 60 суток при температуре 2-15°C.

По истечении срока отстоя ее осветляли и фильтровали, затем пропускали, через стерильные фильтр-пластины и фасовали в стерильные флаконы объемом 200 см³, укупоривали резиновыми пробками, закатывали металлическими колпачками.

Заключительный контроль опытной серии препарата «Сыворотка поливалентная антитоксическая против сальмонеллеза телят, поросят и птиц» проводили в ОКК УП «Витебская биофабрика» на безвредность, стерильность и иммунную активность.

Стабильность препарата изучали на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ.

Для определения безвредности использовали 5 белых мышей массой 16-18г., полученных из вивария УП «Витебская биофабрика», благополучного по инфекционным заболеваниям. Подопытных животных содержали в металлической клетке, ежедневно они получали зерно и воду.

Для испытания использовали 5 флаконов сыворотки из опытной партии. Из каждого флакона отбирали в один стерильный флакон по 20 см³ сыворотки для получения объединенной пробы. Смесь препарата вводили подкожно в области спины в количестве 0,5 см³, после обработки места инъекции тампоном, смоченным 70°С спиртом. Наблюдение за подопытными животными вели в течение 10 суток.

Изучение иммунной активности сыворотки заключалось в определении ее профилактических свойств после иммунизации морских свинок и голубей, и последующего их заражения патогенными культурами сальмонелл. От объединенной пробы отбирали 10 см³ испытуемой сыворотки. Для определения иммунной активности сыворотки в отношении *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. enteritidis* брали по пять морских свинок на каждый серотип сальмонелл и вводили подкожно по 0,5 см³ сыворотки в смеси с 0,5 см³ физиологического раствора. Через 24 часа иммунизированных животных и трех контрольных в каждой группе заражали подкожно 3-5 ЛД₅₀ контрольных штаммов *S. typhimurium* (371), *S. dublin* (373), *S. enteritidis*. Активность препарата по отношению к *S. cholerae suis* (370) проверяли на шести голубях. Исследуемую сыворотку им вводили в количестве 1см³ на голову. Через 24 часа опытных голубей и трех контрольных заражали внутримышечно в грудную мышцу 3-5 ЛД₅₀ штаммом *S. cholerae suis* (370). За зараженными животными вели наблюдение в течение 10 суток.

С целью определения стерильности использовали МПА, МПБ, агар Сабуро и среду Китта-Тароцци по две пробирки каждой среды. Для проведения испытания использовали 5 флаконов из опытной партии сыворотки. Из каждого флакона засеивали в количестве по 0,2 см³ в пробирки с МПА, МПБ, агаром Сабуро и средой Китта-Тароцци и по 2 см³ во флаконы с МПБ и средой Китта-Тароцци. Посевы проводили из каждого флакона испытуемого препарата в 2 пробирки и в 2 флакона с каждой средой. Через двое суток из флаконов с МПБ проводят пересев в указанном выше объеме в 2 пробирки с МПА, а во флаконы с МПБ.

Посевы на агаре Сабуро выдерживали в термостате при температуре 20-22°С, а на остальных средах - при температуре 37±1°С в течение 10 суток. Вторичные посевы на питательных средах выдерживали в течение 8 суток.

Стабильность опытной серии сыворотки изучали путем постановки пробирочной РА. Постановку реакции осуществляли согласно общепринятой методики. Перед постановкой реакции получали ряд последовательных разведений исследуемого препарата от 1:50 до 1:3200. Проверку биологической активности проводили в следующие сроки хранения при температуре (2-15°С): фон (сразу после расфасовки препарата), 1, 3, 6, 12 месяцев.

Результаты исследований. В результате изучения морфологических, культуральных, ферментативных, патогенных и антигенных свойств установлено, что *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. cholerae suis*, *S. enteritidis* – грамотрицательные палочки длиной 2-5 мкм и шириной 0,7-1,5 мкм, без спор и капсул, обладают подвижностью.

На МПА образуют прозрачные с голубоватым оттенком колонии в «S» форме, диаметром 2-3 мм. На МПБ через 18-20 часов инкубирования в термостате вызывают равномерное помутнение среды. На агаре Эндо культуры образует колонии прозрачные, бледно-розовые, на среде Левина - прозрачные с фиолетовым блеском, на агаре Плоскирева - бесцветные, непрозрачные, на висмут-сульфит агаре - черные с металлическим блеском (*S. cholerae suis* образует нежно зеленые колонии). В биохимическом отношении штаммы ферментируют с образованием кислоты и газа глюкозу, маннит, ксилозу, сорбит, арабинозу, дульцит; не ферментируют лактозу и сахарозу, образуют сероводород, не образуют индол.

В антигенном отношении культуры изучили в реакции агглютинации с О- и Н-агглютинирующими диагностическими сыворотками. Все культуры дали положительную РА с соответствующими сыворотками.

Штаммы сальмонелл обладали вирулентными свойствами, LD₅₀ для белых мышей массой 14-16г., что составляло 100 микробных клеток при подкожном введении.

Готовый инактивированный антиген был признан безвредным, т.к. в течение 10 суток мыши оставались живыми и клинически здоровыми.

Величину pH измеряли с помощью pH-метра трижды и подсчитали среднее арифметическое значение, которое составило – 7,3.

Полиантиген признали стерильным, потому что после высева на питательные среды, рост микроорганизмов и грибов отсутствовал в течение 10 суток.

После гипериммунизации волов-производителей, взятия крови, получения из нее сыворотки, последующего отстаивания и фильтрации мы получили опытную серию биопрепарата, который подвергли контролю в ОКК УП «Витебская биофабрика». При этом установили, что полученная сыворотка была:

- безвредной, т.к. в течение 10 суток животные оставались живыми и клинически здоровыми, а на месте введения препарата отека не наблюдалось.

- активной (иммуногенной), т.к. за период наблюдения за зараженными животными все морские свинки и голуби выжили, а у контрольных животных была зафиксирована гибель.

- стерильной, т.к. в течение 10 суток рост микроорганизмов на питательных средах отсутствовал.

По результатам изучения стабильности препарата установили, что за истекший срок хранения снижение активности опытной серии сыворотки не наблюдалось при условии хранения в сухом, темном месте, при температуре (месте 2-15°С), что отражено в таблице.

Заключение. В ходе экспериментальной работы мы получили препарат «Сыворотка поливалентная антитоксическая против сальмонеллеза телят, поросят и птиц». Опытная серия биопрепарата для пассивной профилактики и лечения сальмонеллеза животных обладает высокой иммунной активностью, стериль-

на и безвредна. Полученные результаты будут использованы для разработки ТУ, наставления по применению биопрепарата.

Таблица – Агглютинирующая активность препарата в зависимости от сроков хранения

Сроки хранения, мес.	фон	1	3	6	12
Титры противосальмонеллезных антител к <i>S. typhimurium</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. dublin</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. cholerae suis</i>	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
Титры к <i>S. enteritidis</i>	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200

Литература: 1.Борисович, Л.В. Ветеринарные препараты: справочник / Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кириллов; под ред. Д.Ф. Осидзе. – Москва: Колос, 1981. - 448 с. 2. Медведев, А.П. О контроле качества ветеринарных биологических препаратов. \А.П. Медведев, А.А. Вербицкий, А.М. Юдасин, С.В. Даровских\ \ Ветеринарная медицина Беларуси. – 2004. - №2 (14). 3.Медведев, А.П. Проблемы производства противобактериальных биопрепаратов для пассивной профилактики и лечения животных. \А.П. Медведев, А.А.Вербицкий, С.В. Даровских \ \ Ученые записки: научно-практический журнал\ Витеб. госуд. академия ветер. медицины. - Витебск,2006.-Т.42. ч.2- с.37-40 4.Даровских, С.В. Культурально-морфологические и ферментативные свойства сальмонелл, выделенных от телят в хозяйствах РБ.\ О.Н. Саница\ \ Ученые записки: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии», посвященной 80-летию основания УО ВГАВМ-5 ноября 2004г.\ Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины. -Витебск,2004.-Т.40.- Ч.1.-с.298-299

УДК 619:616.98:579.869.2

ИЗГОТОВЛЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ВАКЦИНЫ СУХОЙ ЖИВОЙ ПРОТИВ РОЖИ СВИНЕЙ ИЗ МАТРИКСА КОНЕВА ОПЫТНОЙ СЕРИИ И РАСТВОРИТЕЛЯ К НЕЙ

Дремач Г.Э., Зайцев В.В.

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

Авторами статьи изготовлена вакцина сухая живая против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии и растворитель к ней и проведен контроль их качества. Установлено, что приготовленный биопрепарат и растворитель по своим показателям соответствуют требованиям действующих ТУ.

A new live dried vaccine against porcine erysipelas on Konev matrix test series and dilutant has been opened. The new vaccine and its dilutant meet the active production requirements.

Введение. К числу наиболее распространенных в Республике Беларусь болезней относится рожа. Неблагополучие хозяйств по данной болезни в значительной степени объясняется нарушением ветеринарно-профилактических мероприятий. Основным мероприятием по профилактике и ликвидации болезни является проведение активной специфической профилактики [5]. С этой целью в Республике Беларусь применяется ряд биопрепаратов, в том числе завозимых из-за рубежа [2, 3, 4, 6].

Наиболее широкое использование для иммунизации свиней против рожи в республике получила депонированная вакцина, производство которой налажено в условиях УП «Витебская биофабрика» [1]. Однако использование данного биопрепарата нередко приводит к появлению у части привитых животных поствакцинальных осложнений и не всегда обеспечивает у них формирование наряженного иммунитета. Это в значительной степени связано с тем, что, во-первых, матрикс Конева, используемый для приготовления депонированной вакцины, обладает остаточными реактогенными свойствами; во-вторых, в процессе хранения биопрепарата происходит снижение жизнеспособности рожистых бактерий и их концентрации в прививочной дозе.

В связи с этим, актуальной задачей в области профилактики и ликвидации рожи у свиней является разработка нового средства специфической профилактики за счет культивирования рожистых бактерий на оптимизированных питательных средах, позволяющих увеличить выход целевого продукта, и разработки способа высушивания и регидратации эризипелотриков, обеспечивающих сохранение жизнеспособных микроорганизмов вакцинного штамма в течение более продолжительного времени.

Цель работы – изготовить и провести контроль качества вакцины сухой живой против рожи свиней из матрикса Конева опытной серии.

Материалы и методы исследований. Работа по изготовлению биопрепарата опытной серии (включая и растворитель) проводилась в условиях вакцинного цеха, контроль качества – отдела контроля качества УП «Витебская биофабрика».