возникновении респираторных и желудочно-кишечных болезней у телят вирусной и бактериальной этиологии является нарушения в кормлении и содержании нетелей, стельных коров и телят. Технология содержания телят на промышленных комплексах приводит к постоянному их стрессу и на этом фоне иммунизация телят ведет к снижению биосинтеза антител. На формирование поствакцинального иммунитета существенное значение оказывают технологические факторы – тип содержания и качество кормления. Повышенный радиоактивный фон местности угнетает иммунологические показатели крови. Длительное бессистемное применение антимикробных средств вызывает дисбактериоз у телят и неблагоприятно воздействует на иммунную систему.

Литература. Гоглидзе, К.Н. Этиология респираторных заболеваний телят / К.Н. Гоглидзе // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Междунар. науч.-прак. конф., посвященной 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А. – Воронеж: Научная книга, 2006. – С. 420 – 424.

УДК 619:579.842.11

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ МАКСИМАЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ АДГЕЗИВНЫХ АНТИГЕНОВ И ЭНТЕРОТОКСИНА ЭШЕРИХИЙ

***Медведев А.П., **Юдасин А.М.**

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная акаде-мия ветеринарной медицины»

**УП «Витебская биофабрика», Республика Беларусь

Эшерихиоз (колибактериоз, колиинфекция) - инфекционная болезнь преимущественно молодняка всех видов сельскохозяйственных животных, проявляющаяся профузным поносом, обезвоживанием организма, признаками тяжелой интоксикации. Возбудителями болезни являются многочисленные серовариантны эшерихий.

Эшерихиоз распространен во всех странах мира. В Республике Беларусь по широте распространения и частоте регистрируемости эшерихиоз занимает первое место среди инфекционных болезней животных бактериальной природы.

Решающее значение в борьбе с инфекцией имеет активная специфическая профилактика, осуществляемая с помощью вакцин.

Всестороннее изучение возбудителей болезни, открытие адгезивных антигенов и термолабильного энтеротоксина у эшерихий обусловило изменение точки зрения на патогенез и специфическую профилактику колиинфекции. Было выявлено, что эшерихии с большей степенью вероятности способны вызывать развитие инфекционного процесса при наличии у них адгезивного антигена, а также продукции энтеротоксинов (В.Г. Зароза, 1984; О.А. Тугаринов, Э.А. Светоч, Е.И. Попов, 1988).

Адгезивный антиген и термолабильный энтеротоксин являются основными факторами патогенности и обладают выраженными антигенными и иммуногенными свойствами. Естественно, это вызвало их широкое применение в биологической промышленности с целью изготовления ветеринарных препаратов для диагностики, активной и пассивной профилактики эшерихиоза и специфической терапии больных животных.

Известно, что получение адгезивного антигена и термолабильного энтеротоксина тесно связано с накоплением бактериальной массы эшерихий, подбором питательных сред и селекцией штаммов - активных продуцентов упомянутых протективных антигенов.

Поэтому целью нашей работы явился подбор оптимальных питательных сред для максимального накопления адгезивных антигенов и термолабильного энтеротоксина эшерихий для производства на их основе качественных препаратов против колибактериоза животных.

Материалы и методы. Нами исследованы 18 производственных штаммов эшерихий и 36 штаммов, изолированных от больных и павших животных в различных хозяйствах РБ неблагополучных по колибактериозу.

Применяя общеизвестные микробиологические методы, у производственных и выделенных штаммов изучали морфологические, культуральные, протеолитические, гемолитические и антигенные свойства.

При изучении биологических свойств штаммов большое внимание уделяли степени диссоциации бактерий. Для запланированных экспериментов с по-верхности плотной питательной среды (МПА) отбирали колонии в «S» - форме. Из этих колоний делали расплодку на МПА, выращивали бактерии в течение 18-20 часов при 37-38°С, делали смыв микробов физиологическим раствором и ставили пробу кипячения. Для дальнейшей работы использовали штаммы эшерихий, которые в пробе кипячения не выпадали в осадок.

Серогрупповую принадлежность штаммов определяли в пробирочной реакции агглютинации (РА) с набором диагностических О-колиагглютинирующих сывороток в соответствии с наставлением по их применению.

Наличие у штаммов адгезивных антигенов К 88 и К 99 устанавливали в РА на стекле с агглютинирующими сыворотками производства Ставропольской биофабрики, РФ.

Производственные и выделенные штаммы эшерихий выращивали на МПА в жидких средах Хоттингера, Мунделя, МПБ и Финкельштейна. Бактерии культивировали в течение 18-20 часов при температуре 37-38°С.

Степень токсинообразования у штаммов эшерихий определяли в тесте «изолированная петля кишечника поросенка». Для этого выращенные культуры эшерихий центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 минут. Надосадочную жидкость прогревали при 60-65°С в течение 30 минут, а затем вводили в дозе

www.vsavm.by

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

1см^3 в изолированную петлю тонкого отдела кишечника поросят. Для опытов использовали поросят 10-14-дневного возраста. Поросят оперировали, предварительно подвергнув их эфирному наркозу. Перед операцией животных выдерживали на голодной диете в течение суток. Поросят оперировали, соблюдая правила асептики. Тонкий отдел кишечника делили на участки 8-10см. В каждый второй участок вводили культуральную жидкость. Спустя 24 часа после операции животных подвергали эфирному наркозу и проводили вскрытие. В отдельных кишечных участках измеряли количество жидкости и сравнивали с контролем. Степень токсинообразования выражали в индексе дилятации, величину которого рассчитывали по формуле

d = V / n, где

d - индекс дилятации,

V - объем жидкости в сегменте,

n - длина сегмента.

Индекс равный или больший 0,7 считали положительным, меньше 0,7 -отрицательным результатом.

Однако в процессе опытной работы, ввиду дороговизны производственных животных (поросят) и сложности определения индекса дилятации на них, мы вынуждены были определять токсигенность некоторых штаммов эшерихий на белых мышах. Для этого эшерихии выращивали в бульоне Хоттингера и МПБ в течение 24 часов. Полученные культуры центрифугировали при 6000 об/мин, и надосадочную жидкость вводили мышам интраплантарно в дозе 0,1см^3. В опыте использовали мышей массой 14-18 г. В качестве контроля слу-жили мышки, которым надосадочную жидкость не вводили. По разнице в весе лапок опытных и контрольных мышек судили о токсичности выращенных культур эшерихий и токсигенной способности бактерий.

Количественное определение адгезивных антигенов проводили в реакции преципитации методом двойной радиальной диффузии в агарозе по Ухтерлони. С этой целью штаммы бактерий культивировали на жидких питательных средах 12-14 часов. Эшерихии осаждали центрифугированием при 6000 об/мин в течение 20 минут, а осадок ресуспендировали в фосфатно-мочевинном буфере до концентрации 10^{11} м.к./см^3. Экстракцию адгезивных антигенов проводили по-средством нагревания ресуспендированных бактерий в водяной бане при 60-65°С в течение 20 минут, а затем суспензию центрифугировали, из надосадочной жидкости делали последовательные двукратные разведения полученных адгезивных антигенов К88 и К99.

В агарозном геле по периферии чашки Петри делали лунки, в которые вносили равные объемы каждого разведения антигенов. В центре агара делали одну лунку, в которую вносили стандартную антисыворотку. Результаты реакции диффузной преципитации оценивали через 72 часа по величине титра. Титром считали наибольшее разведение антигена, дающее хорошо заметную линию преципитации.

*Результаты исследований.*Производственные и выделенные штаммы бактерий представляли собой грамотрицательные подвижные палочки с закругленными концами. Культуральные свойства микроорганизмов существенных различий не имели и были характерными для семейства энтеробактерий рода Escherichia.

Результаты изучения ферментативных и протеолитических свойств производственных и изолированных штаммов бактерий свидетельствовали о том, что они ферментируют с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, сорбит, арабинозу. Все штаммы свертывали молоко, образовывали индол, не выделяли сероводорода, не расщепляли мочевину, не разжижали желатин.

При изучении антигенной структуры было установлено, что большинство штаммов давали в пробирочной РА положительную реакцию с О-колисыворотками до их титра.

При исследовании антигенной структуры 36 эпизоотических штаммов была установлена их серогрупповая принадлежность. Так, к серогруппе 01 отнесены 2 штамма, 09-2, 078-5, 0101-10, 0115-8,0138-3, 0141-2, 0147-1, 0149-3. Адгезивный антиген К88 был обнаружен у 8 штаммов, а К99 у 4, что свидетельствует о довольно высоком проценте (33,3%) наличия этого антигена как фактора вирулентности у энтеропатогенных эшерихий.

Способность гемолизировать эритроциты на мясо-пептонном агаре с кровью была выявлена только у штаммов 0138 и 0149.Токсические свойства были обнаружены у штаммов 0101, 0147, 0149.

Для определения оптимальной питательной среды, позволяющей эшери-хиям максимально интенсивно продуцировать адгезивные антигены К88 и К99 и термолабильный энтеротоксин, в опыте были задействованы штаммы эшери-хий, принадлежащие к серогруппам: 0141, 0147, 0149. Эти штаммы обладали способностью продуцировать адгезивный антиген К88 и термолабильный энтеротоксин. Кроме этого использовали для культивирования в различных средах штаммы, относящиеся к серогруппам 09 и 0101, продуцирующие адгезивный антиген К99.

В процессе культивирования эшерихий было установлено, что оптималь-ными питательными средами для продукции термолабильного токсина и адгезивного антигена К88 явились бульон Хоттингера и мясопептонный бульон, в отличие от сред Мунделя и Финкельштейна. Разница в весе лапок опытных и контрольных мышек для эшерихий серогруппы 0141 составила при выращивании на бульоне Хоттингера 10мг, на МПБ —5мг, для бактерий серогруппы 0147 - 40-60 мг, а для микробов серогруппы 0149 - 70-45 мг, соответственно. Эти данные показывают, что наиболее оптимальной средой для накопления термолабильного энтеротоксина является бульон Хоттингера по сравнению с МПБ. Не приводя цифровых данных, мы должны заметить, что накопление энтеротоксина на средах Мунделя и Финкельштейна было в 2 раза ниже, чем на бульоне Хоттингера и на МПБ.

Адгезивный антиген К88 у штаммов, выращенных на бульоне Хоттингера и МПБ, накапливался в количестве, проявляющемся в РДП в титре 1:5-1:6, а на средах Мунделя и Финкельштейна давал линию преципитации в титре 1:2.

Штаммы эшерихий серогруппы 0101 и 0141 (0141:К99), выращенные на средах Мунделя, Финкельштейна, Хоттингера, МПБ, практически не имели адгезивного антигена К99. По мнению видного исследователя эшерихиозов у сельскохозяйственных животных О.А.Тугаринова, это можно объяснить высо-

www.vsavm.by

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

ким содержанием некоторых аминокислот в жидких питательных средах (аланина, глутаминовой кислоты, серина и др.), которые оказывают ингибирующее действие на формирование полноценной антигенной структуры эшерихий при их росте.

Таким образом, из 36 изолятов энтеропатогенных эшерихий выявлено наличие адгезивного антигена К88 у 8 штаммов, а К99 - у 4-х.

Оптимальными питательными средами для накопления адгезивного антигена К88 и термолабильного токсина являются бульон Хоттингера и МПБ.

Среды Мунделя и Финкельштейна являются малопригодными для накопления адгезивного антигена К88 и термолабильного энтеротоксина и непригодными для накопления адгезивного антигена К99.

Литература.1. Зароза В.Г. Энтеротоксигенные инвазивные кишечные палочки, их характе-ристика и пре-нтификация.- Достижения с.-х.науки и практики, 1984, 1,с. 17-28. 2. Тугаринов О.А., Светоч Э.А., Попов Е.И. Разработка методических подходов к изготовлению диагностических агглютинирующих эшерихиозных К88 и К99 сывороток. - Материалы Всесоюзной конференции. - Львов, 1988, с.370-371.

УДК 619:615.371:619.98:579.842.14 С

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ВОЛОВ ПРИ ГИПЕРИММУНИзАЦИИ ИХ САЛЬМОНЕЛЛЁЗНЫМ АНТИГЕНОМ

Медведев А.П., Даровских С.В., Корочкин Р.Б.
УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь

Иммунологические показатели у волов при гипериммунизации их сальмонеллёзным антигеном свидетельствуют о нарастании иммунного ответа организма до десятой – двенадцатой инъекции антигена. Последующие инъекции удлиняют срок гипериммунизации, ведут к неоправданным затратам материальных средств и труда.

Immunobiological properties in oxen immunized with Salmonella antigens indicate an incresead immunity response in the animals up to the 10 – 12 th injection. The following injections prolong the immunizations period leading to unreasonable material and labor waste.

Введение. Сальмонеллезы – это группа бактериальных болезней, преимущественно молодняка с\х, домашних и промысловых животных, характеризующиеся при остром течении лихорадкой, явлениями септицемии, токсикоза и поражением кишечника, а при хроническом – воспалением легких, артритами. У взрослых животных проявляется абортами, а у людей – в виде пищевых токсикоинфекций.

Согласно определителю бактерий Берджи (1997) все серовары Salmonella (включая arizonae) относятся к двум видам: Sal.bongori и Sal.choleraesuis, Sal.bongori содержит менее 10 очень редких сероваров. Все остальные 25000 сероваров выделены внутри вида Sal.choleraesuis, который по фенотипическим и генотипическим критериям разделен на 6 подвидов: arizonae, choleraesuis, diarizonae, houtenae, indica, salamae. Все серовары внутри подвида choleraesuis имеют названия, тогда как в других подвидах серовары (за исключением некоторых видов salamae и houtenae) не имеют названий.

Для пассивной специфической профилактики сальмонеллёза и лечения больных животных применяют сыворотку против сальмонеллёза телят, поросят, ягнят, овец и птиц, которую получают путём гипериммунизации волов сальмонеллёзным антигеном.

Известно, что вирусные и микробные антигены вызывают сложную иммунобиологическую перестройку организма животного. Реакцию организма на антигены можно определить с помощью многочисленных тестов, в том числе по изменению белкового состава сыворотки крови, определению агглютинирующей и превентивной активности сыворотки, динамике Т- и В-лимфоцитов в крови животных.

В литературных источниках имеются данные о динамике белковых фракций сыворотки крови животных, вакцинированных против сальмонеллёза [1, 3, 5, 6]. Однако сообщений относительно соотношения белков в сыворотке крови волов в процессе их гипериммунизации поливалентным сальмонеллёзным антигеном мы не обнаружили.

Не меньший практический интерес представляют данные о динамике Т- и В-лимфоцитов в крови волов в процессе гипериммунизации их инактивированным формолантигеном.

Поэтому, целью данной работы явилось изучение динамики белковых фракций, Т- и В-лимфоцитов, агглютинирующей и превентивной активности в сыворотке крови волов в процессе гипериммунизации их сальмонеллёзным антигеном.

Материалы и методы. Для гипериммунизации волов антиген готовили из четырёх штаммов сальмонелл: Sal. choleraesuis, Sal. dublin, Sal. typhimurium и Sal. abortusovis. Прежде, чем использовать штаммы для приготовления антигена, их высевали в мясопептонный бульон, на мясопептонный агар, изучали характер роста сальмонелл на этих средах, чистоту культур, тинкториально-морфологические свойства, антигенную структуру бактерий, используя при этом общепринятые в бактериологической практике методы исследований.

Культуру каждого серотипа сальмонелл выращивали в отдельном реакторе в течение 10-14 часов при 37-38^{0}С, pH 7,4-7,8 с соблюдением условий аэрации и непрерывного перемешивания питательной среды, Концентрацию микробных тел, pH и чистоту культуры определяли через каждые два часа культивирования.

www.vsavm.by

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ