

в ней солей реабсорбируются в тощей, подвздошной и толстой кишке. Многие патологические процессы могут возникнуть в тонком кишечнике, но основные их эффекты связаны с нарушением всасывания нутриентов и жидкости, повреждением барьерной функции [4]. Щелочная фосфатаза была повышена у пяти собак до 92,1 Е/л, но снижена у двух котов до 30,1 Е/л.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, который существует в тканях в форме тетрамера. Повышение ее активности наблюдается при широком спектре патологических состояний, таких как острое поражение печени, скелетных мышц и почек, а также при мегабластных и гемолитических анемиях. ЛДГ был повышен у четырех собак до 180,3 Е/л, а также у трех кошек до 161,4 Е/л.

По данным показателям можно сделать заключение об иницировании дипилидиями воспалительных процессов в кишечнике, печени и сердечной мышце.

Заключение.

1. При гематологическом и биохимическом исследованиях крови были получены следующие результаты: наблюдалось повышение среднего объема эритроцитов, гемоглобина, среднего объема тромбоцитов, гематокрит, лимфоцитов, лейкоцитов, гранулоцитов; ЛДГ, АлАт, АсАт, щелочной фосфатазы, общего белка, холестерина, натрия.

2. В результате проведенных исследований выявлено, что изменения показателей крови указывают на функциональное состояние органов, подтверждая проявление клинических признаков при дипилидиозе.

3. Исследования крови дают возможность врачу выяснить причины некоторых симптомов, а также функционального состояния органов.

Литература. 1. Ангельські, С. Клінічна біохімія / З. Якубовські, М. Домінчак. – Сопот, 1998. – 480 с. 2. Методологические основы оценки клинико-морфологических показателей крови домашних животных / Е. Бажибина, А. Коробов, С. Серета [и др.]. – Москва : Аквариум, 2004. – 127 с. 3. Бурмистров, Е. Н. Клиническая лабораторная диагностика. Основные исследования и показатели : справочник / Е. Н. Бурмистров. – Москва, 2002. – 20 с. 4. Болезни собак / Ф. И. Василевич, В. А. Голубева, Е. П. Данилов [и др.]. – Москва : Колос, 2001. – С. 64-70; 440-443. 5. Козинец, Т. И. Кровь и инфекция / Т. И. Козинец. – Москва : Триада-Фарм, 2001. – 456 с. 6. Уилард, М. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных / М. Уилард, Т. Тверден, Г. Торновальд. – Москва : Аквариум, 2004. – 431 с. 7. Ветеринарная паразитология / Г. Уркхарт, Д. Эрмур, Д. Дункан [и др.]. – Москва : Аквариум, 2000. – 351 с. 8. Іринчук, В. В. Сезонна та вікова динаміка дипілідіозу м'ясоїдних в умовах м. Одеси / В. В. Іринчук // Аграрний вісник Причорномор'я. – Одеса, 2008. – Вип. 42. – С. 150-153. 9. Іринчук, В. В. Место дипилидиоза в общей заразной патологии собак в условиях г. Одессы / В. В. Іринчук // Аграрний вісник Причорномор'я : збірник наукових праць. – Одеса, 2008. – № 42 (2). – С. 150-153. 10. Гармаш, А. В. Метрولوجические основы аналитической химии / А. В. Гармаш, Н.М. Сорокина. – 3 изд. – Москва, 2012. – 42 с.

Статья передана в печать 14.03.2016 г.

УДК 619:579.842.11

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ ЭШЕРИХИЙ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ВАКЦИН ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА

Медведев А.П., Вербицкий А.А., Алешкевич В.Н., Меньшикова В.М.

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

В статье приведены данные по выяснению значения факторов вирулентности эшерихий и влияния их на иммуногенность бактерий при получении моновакцин против колибактериоза.

The article features data on the clearance of the importance of factors of the virulence of Escherichia and their influence on the immunogenicity of bacteria at the development of mono vaccines against colibacteriosis.

Ключевые слова: вирулентность, экзотоксин, эндотоксин, иммуногенность, антиген, штамм, моновакцина, мыши, морские свинки, доза, колибактериоз.

Keywords: virulence, exotoxin, endotoxin, immunogenicity, antigen, strain, mono vaccine, mice, guinea pigs, dose, colibacteriosis.

Введение. Одной из основных причин снижения рентабельности животноводческих хозяйств являются инфекционные болезни молодняка с симптомами поражения желудочно-кишечного тракта, среди которых первое место принадлежит эшерихиозу (колибактериоз, колисептицемия).

Колибактериоз (эшерихиоз) – инфекционная болезнь, в основном молодняка разных видов сельскохозяйственных животных, собак, птиц, пушных зверей, характеризующаяся диареей, обезвоживанием организма, нарастающей слабостью, интоксикацией, смертельным исходом. В отдельных случаях колибактериоз сопровождается поражением суставов, легких. У поросят-отъемышей болезнь

протекает в виде колиэнтеротоксемии (отечной болезни). У взрослых животных эшерихии могут вызывать аборт и артриты.

Возбудителями колибактериоза являются энтеробактерии. Они широко распространены в природе. Средой обитания энтеробактерий является почва, вода, кишечник животных и человека. Их обнаруживают в продуктах питания, в кормах для животных. Среди энтеробактерий различают патогенных, условно-патогенных и сапрофитов. Энтеробактерии довольно устойчивы к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды.

Энтеробактерий относят (Bergey, Second Edition, Vol. 2, 2005) к домену *Bacteria*, типу *Proteobacteria*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Enterobacteriales*, семейству *Enterobacteriaceae*, которое включает 43 рода.

Чаще всего инфекционную патологию у животных вызывают бактерии родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Shigella*, *Yersinia*. Значительно реже могут обуславливать болезнь энтеробактерии родов *Citobacteria*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia* и других.

К новым и редким родам энтеробактерий относятся: *Bubvicia*, *Cedecia*, *Eningella*, *Koserella*, *Leminorella* и другие.

Бактерии всех родов семейства имеют сходство по морфологическим, культуральным свойствам и различаются по биохимическим признакам.

Энтеробактерии грамотрицательны, спор не образуют, капсул не формируют, за исключением отдельных сероваров, подвижны, но встречаются и неподвижные микроорганизмы. Все они хемоорганотрофы, негалофиллы, реже – аэробы, хорошо растут на простых питательных средах.

Впервые возбудителя колибактериоза – *E. coli* выделил из фекалий больного ребенка в 1885 Т. Эшерих. *E. coli* относится к роду *Escherichia*. Так назван этот род в честь Т. Эшериха. Род представлен 5 видами. Основную роль в инфекционной патологии играет вид *E. coli*. Кишечная палочка как нормальный обитатель кишечника синтезирует витамины К, В, Е и другие, является антагонистом патогенных бактерий (выделяет колицины), участвует в пищеварении, стимулирует иммунную систему. При подавлении *E. coli* антибиотиками и другими антисептиками у животных развивается дисбактериоз. *E. coli* – это палочки с закругленными концами, шириной 0,3–0,6 мкм, длиной 1–3 мкм. В препаратах они располагаются беспорядочно, грамотрицательны, не образуют спор, капсул, за исключением отдельных сероваров, например, 09, 08, 0101, подвижны, но встречаются и неподвижные бактерии. Кроме жгутиков, некоторые штаммы имеют ворсинки или фимбрии (пили), которые могут быть двух видов: секс-пили и адгезивные пили. Секс-пили служат для полового размножения, а адгезивные – для прикрепления к эпителиальным клеткам слизистой оболочки кишечника.

E. coli хорошо растет на обычных питательных средах: МПБ, МПА, МПЖ, МПГЖА и дифференциально-диагностических – Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфитном агаре. Оптимальная температура роста – 37-38°C, рН сред – 7,2–7,4.

В МПБ кишечная палочка интенсивно растет, вызывая его помутнение с образованием осадка, который легко разбивается при встряхивании пробирки. На МПА бактерии формируют колонии диаметром 2–3 мм. На среде Эндо колонии темно-вишневого цвета с металлическим блеском, на среде Плоскирева – колонии розового цвета, на висмут-сульфитном агаре – серо-белого цвета. В МПЖ наблюдают рост по унолу в виде серо-белого стержня, разжижение среды не наступает. В полужидком агаре бактерии, в случае их подвижности, растут по всей массе агара, неподвижные – по уколу в виде серо-белого стержня.

E. coli ферментирует с образованием кислоты и газа глюкозу, лактозу, маннит, не изменяет адонин, инозит, образует индол, не образует сероводород, не растет на среде Симмонса, не расщепляет мочевину. Наиболее важным отличительным признаком *E. coli* от других представителей семейства является ее способность ферментировать лактозу. *E. coli* как возбудитель отечной болезни порсят на кровяном агаре дает вокруг колоний бесцветную зону гемолиза.

Антигенная структура у *E. coli* сложная. Различают О-антиген – соматический, К-антиген, поверхностный, капсульный, Н-антиген, жгутиковый и адгезивный антиген, состоящий из пилей или фимбрий, которые служат для прикрепления к клеткам кишечника. По О-антигену определяют принадлежность к серогруппам. Известно 180 серогрупп. У различных серогрупп обнаружено 104 разновидности поверхностных К-антигенов и 56 жгутиковых Н-антигенов. В настоящее время обнаружено более 9000 серологических вариантов эшерихий по О, К, Н-антигенам.

Патогенные эшерихии одних и тех же серогрупп могут вызывать болезни у животных разных видов и человека.

Колибактериоз может протекать в септической, энтеротоксемической и энтеритной форме. При септической – возбудитель быстро проникает в кровь, размножается, распространяется, вызывает гибель в течение нескольких часов, суток.

При энтеротоксемической – возбудитель проникает в кишечник, брыжеечные лимфоузлы, вызывает воспаление в органах и тканях, токсикоз. Энтеритная форма болезни связана с внедрением в организм инвазионных форм эшерихий, обладающих слабой подвижностью и не имеющих адгезивных антигенов. Такие бактерии проникают в слизистую оболочку кишок, размножаются, при разрушении их образуются эндотоксины, которые вызывают диарею.

Из литературных источников известно, что факторы вирулентности энтеропатогенных эшерихий: эндотоксины, полисахарные К-антигены, адгезивные антигены, гемолизины, энтеротоксины обладают в разной степени антигенными свойствами и являются активными антигенами.

В связи с этим применение очищенных препаратов как из адгезивных антигенов, так и из энтеротоксинов является весьма целесообразным при изготовлении вакцин для активной специфической профилактики колибактериоза, а также лечебно-профилактических гипериммунных сывороток для пассивной профилактики болезни и лечения больных животных.

Многие исследователи полагают достаточным при изготовлении вакцин против эшерихиоза введение в состав одного или двух компонентов, являющихся факторами вирулентности бактерий, например, адгезивного антигена и ТЛ-анатоксина, для защиты животных от колибактериоза. При этом авторы не всегда учитывают многообразие этиологической структуры болезни и не уделяют должного внимания возможному факту проявления в одном и том же хозяйстве различных форм колибактериоза (септической, энтеритной, энтеротоксемической), которые зависят главным образом от антигенной структуры возбудителя и набора его факторов вирулентности.

Целью экспериментов явилось выяснение влияния отдельных факторов вирулентности эшерихий на иммуногенность приготовляемых вакцин против колибактериоза.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- определить роль эндотоксинов в иммуногенности эшерихий;
- выявить роль экзотоксинов в иммуногенности бактерий;
- определить значение адгезивных антигенов в иммуногенности эшерихий.

Материалы и методы исследований. В экспериментальной работе применяли производственные штаммы эшерихий: *E. coli* - 041, 078; К 80; 0101: К99; 0149: К91; К88; 320. Определение серогрупповой принадлежности эшерихий проводили в развернутой РА с групповыми и моновалентными О-коли сыворотками, изготовленными Армавирской биофабрикой. Выращивание эшерихий осуществляли на обычных питательных средах (МПБ, МПА). Чистоту выращенных культур бактерий контролировали путем микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Иммуногенность моновакцин определяли в остром опыте на морских свинках и белых мышах. Мышей и морских свинок иммунизировали подкожно в различных дозах, используя на дозу не менее пяти животных. Вирулентность штаммов эшерихий выражали в 50%-ной летальной дозе (LD_{50}), а иммуногенность их - в 50%-ной иммунизирующей дозе (ID_{50}).

Результаты и методы исследований. Из штамма 041 была приготовлена моновакцина. Этот штамм не имеет капсульных и адгезивных антигенов, не продуцирует экзотоксинов и гемолизина, но обладает высокой вирулентностью за счет эндотоксина. Вакцину вводили подкожно белым мышам массой 18–20 г в дозах 500, 100, 20, 4 и 0,8 млн микробных клеток, используя на каждую дозу пять животных. Через 20 дней после иммунизации мышей заражали четырьмя штаммами эшерихий раздельно в дозах 5 LD_{50} . Для заражения использовали штаммы: *E. coli* 078: К 80, обладающий токсигенными свойствами, имеющий капсульный полисахаридный антиген, высоко вирулентный для мышей; *E. coli* 0101: К 99 с адгезивным антигеном, обладающий гемолитическими свойствами, синтезирующий экзотоксин, но слабо вирулентный для мышей; *E. coli* 0149: К 91: К 88, аналогичный по свойствам предыдущему штамму, но обладающий более высокой вирулентностью.

Штамм *E. coli* 041, из которого была приготовлена вакцина, не имел антигенного и иммуногенного родства с использованными для заражения штаммами.

Результаты контрольного заражения представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Иммуногенность вакцины из штамма *E. coli* 041

Доза вакцины (млн м. к)	Заражающий штамм и доза 5 LD_{50} млн м.к.	Результат		ID_{50} млн м.к.
		живы	пали	
500 120 20 4 0,8 контроль	041 125	3 2 1 0 0 0	2 3 4 5 5 5	150
500 100 20 4 0,8 контроль	078:К 80 125	2 1 0 0 0	3 4 5 5 5	420
500 100 20 4 0,8 контроль	0101: к 99: 900	1 0 0 0 0	4 5 5 5 5	>500
500 100 20 4 0,8 контроль	0149: К 91: К 88 125	0 0 0 0 0	5 5 5 5 5	>500

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что моновакцина, приготовленная из штамма *E. coli* 041, основным фактором вирулентности которого является эндотоксин (O-антиген), защищает от гибели 50% мышей только против гомологичного штамма в дозе 150 млн микробных клеток. Защита же мышей по отношению к другим штаммам эшерихий, обладающим более широким набором факторов вирулентности, но не имеющим родственного O-антигена, отсутствует полностью.

С целью изучения влияния адгезивных антигенов на иммуногенную активность эшерихий штамм *E. coli* 0149: K 91: K 88 выращивали при комнатной температуре и в термостате при 37°C. Выращенные в МПБ и МПА культуры проверяли в пробирочной реакции агглютинации и на предметном стекле с анти-сывороткой K 88 на наличие гомологичного антигена.

Штамм *E. coli* 0149: K 91: K 88, выращенный при комнатной температуре, потерял способность синтезировать антиген K 88, напротив, культура, выращенная в термостате, имела высокое содержание антигена K 88 и агглютинировалась в РА гомологичной по K-антигену сывороткой в титре 1:200.

Из культур, выращенных в термостате и при комнатной температуре, были приготовлены моновакцины и определена их активность на морских свинках и белых мышах при заражении их исходным штаммом, содержащим антиген K 88, в дозе 5 ЛД₅₀. Результаты опыта сведены в таблицу 2.

Таблица 2 - Иммуногенная активность вакцин, содержащих и не содержащих антиген K 88.

Вид животных	Состав вакцин	Количество животных	Доза вакцины (млрд м. к)	ИД ₅₀ (млрд м. к)
Морские свинки	содержит K-антиген	5	0,4	0,116
		5	0,2	
		5	0,1	
		5	0,05	
Белые мыши	содержит K-антиген	20	0,4	0,324
		20	0,2	
		20	0,1	
		20	0,05	
Морские свинки	не содержит K-антиген	5	0,4	0,384
		5	0,2	
		5	0,1	
		5	0,05	
Белые мыши	не содержит K-антиген	20	0,4	0,508
		20	0,2	
		20	0,1	
		20	0,05	
Морские свинки	контроль	5	-	пало 5
Белые мыши	контроль	20	-	пало 19

Цифровой материал таблицы 2 показывает, что иммунизирующая 50%-ная доза вакцины, приготовленной из культуры, содержащей антиген K 88, составляет для мышей 0,324 млрд м.к., а доза препарата без капсульного антигена – 0,508 млрд м.к.

Из таблицы видно, что 50%-ная иммунизирующая доза вакцины для морских свинок с K-антигеном составляет 0,116 млрд микробных клеток, без K-антигена – 0,384 млрд м.к.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о более высокой иммуногенной активности вакцины, приготовленной из культур штаммов с капсульным антигеном, полученных от мышей и морских свинок.

Для определения зависимости иммуногенной активности штаммов от их токсинообразования была приготовлена моновакцина из штамма 320, содержащая экзотоксин и не содержащая его, т.е. полученная путем обработки культуры автоклавированием и отмыванием физиологическим раствором.

Результаты изучения иммуногенной активности этих вакцин представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Иммуногенная активность вакцин в зависимости от содержания экзотоксина

Состав вакцины	Доза (см ³)	Кол-во мышей	Штамм для заражения и доза (млн м.к.)	Результат		ИД ₅₀ (см ³)
				живы	пали	
Штамм № 320 с экзотоксином	0,5	5	№ 320 125	4	1	0,032
	0,1	5		3	2	
	0,02	5		3	2	
	0,004	5		1	4	
Штамм № 320 без экзотоксина	0,5	5	№ 320 125	2	3	0,115
	0,1	5		2	3	
	0,02	5		1	4	
	0,004	5		0	5	
Контроль	-	10	№ 320 125	-	10	-

Из таблицы видно, что моновакцина, содержащая экзотоксин, обладает большей иммуногенной активностью, чем моновакцина, не содержащая экзотоксин. Иммунизирующая 50%-ная доза для мышей равнялась у этих вакцин, соответственно, 0,032 см³ и 0,115 см³.

Заключение. Результаты проведенных исследований по определению значения факторов вирулентности эшерихий и влияния этих факторов на иммуногенность получаемых из бактерий моновакцин свидетельствуют о зависимости иммуногенности препаратов от содержания адгезивных антигенов, экзотоксинов и эндотоксинов в структуре эшерихий, из которых были приготовлены моновакцины.

Литература. 1. Малахов, Ю. А. Специфическая профилактика эшерихиоза животных / Ю. А. Малахов, О. А. Тугаринов, М. К. Пирожков // *Ветеринария*. – № 8. – 1993. – С. 5-7. 2. Полякова, О. А. К-антигены энтеропатогенных эшерихий, изолированных от телят при колибактериозе / О. А. Полякова // *Тр. ВИЭВ*. – М. – 1978. – С. 96 – 104. 3. Светоч, Э. А. Факторы патогенности возбудителей эшерихиоза сельскохозяйственных животных // Автореф. дис. ... док. вет. наук. – Москва, 1992. – С. 10 – 12. 4. Тугаринов, О. А. Факторы вирулентности энтеропатогенных эшерихий и оптимальные питательные среды / О. А. Тугаринов, М. К. Пирожков, Т. И. Исхакова // В кн. «Профилактическая эффективность специфических средств защиты животных и методы контроля качества биологических препаратов». – 1991. – С. 32 – 38.

Статья передана в печать 19.02.2016 г.

УДК 636.7/.8.09:616.98:579:615.26

ЭФФЕКТИВНАЯ СХЕМА ПРИМЕНЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ «НИХЛОБЕН» ПРИ ДЕРМАТОМИКОЗАХ СОБАК И КОШЕК В Г. ХАРЬКОВЕ

Морозова В.В., Северин Р.В., Головки В.А.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

В статье раскрыта сравнительная эффективность применения нихлобена и мази «Унисан» при лечении естественной трихофитии у кошек и собак.

In the article revealed comparative effective utilization of "Nichloben" and ointments "Ynisan" in the treatment of natural trichophytia in cats and dogs.

Ключевые слова: дерматомикозы, нихлобен, унисан, кошки, собаки, лечение.

Keywords: dermatomycosis, "Nichloben", "Ynisan", cats, dogs, treatment.

Введение. Домашние мясоедные (собаки и кошки) относятся к животным, которые очень тесно контактируют с человеком. Так, животные, в условиях большого города живут с человеком, как правило, на достаточно ограниченной территории, что способствует распространению зоонозных заболеваний, к которым относятся и дерматомикозы с незафиксированными клиническими признаками. Большую роль в возникновении кожных заболеваний среди мелких домашних животных играет низкая резистентность организма (худые, слабые, постоянно подвергающиеся респираторными заболеваниями животные), хроническое течение ряда вирусных и паразитарных инфекций, гипо- и авитаминозы, нарушение обмена веществ, неблагоприятные экологические и природно-климатические (дождливая погода, сырость, жара) факторы, наличие эктопаразитов, неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия в местах содержания и выгула животных. Одним из основных мест в этиологии дерматитов занимают микроскопические грибы, которые способны длительное время находиться на поверхности кожного покрова животного, тем самым самостоятельно или в ассоциации с другими микроорганизмами вызывать или усиливать воспалительные процессы. В патогенезе грибковых заболеваний основной роль играют все цепочки иммунной системы, в частности Т- и В- лимфоциты в иммунитете, которые соединяются с макрофагами для образования иммунитета у животных.

Несмотря на существование многочисленных современных наружных и системных фармакологических средств, их терапевтическая эффективность остается достаточно низкой, поэтому проблема лечения дерматомикозов по-прежнему актуальна не только для ветеринарии, но и для медицины. В настоящее время появилось значительное количество новых специфических лечебно-профилактических средств как отечественного, так и зарубежного производства для борьбы с дерматомикозами. Часто противогрибковые препараты имеют высокую стоимость, рассчитаны на длительный период применения и имеют ряд противопоказаний, что делает их малодоступными для использования ветеринарными специалистами и владельцами животных.

Из вышеизложенного мы видим, что важным является создание новых, экологически безопасных противогрибковых препаратов для наружного применения, обладающих как фунгицидной, так и антибактериальной активностью, которые имели бы низкую себестоимость, высокую терапевтическую эффективность и отсутствие противопоказаний.

Разработка и оценка эффективности новых противогрибковых средств наружного применения