

группой. Толщина мышечной и серозной оболочек увеличилась в первой опытной группе на 13%, второй на 13,18%, третьей на 15% и четвертой на 17,88%.

Параллельно с изменением толщины стенки двенадцатиперстной кишки изменяется и длина кишечника. Она у кур 60-недельного возраста в контрольной группе равнялась 159,3 см, в первой опытной группе 170 см, во второй 161 см, третьей 162,3 см

и четвертой 176,3 см. Относительная масса кишечника в контрольной группе составила 7,6%, в первой опытной группе 7,94%, во второй 7,11%, в третьей 7,17% и четвертой 8,85%.

Таким образом, снижение в рационе уровня обменной энергии до 2400 килокалорий приводит к развитию компенсаторно-приспособительных реакций тканей и структур двенадцатиперстной кишки.

SUMMARY

Thus, reduction in a diet of a level of exchange energy up to 2400 kcal results in development of compensatory-adaptive reactions of fabrics and structures of a duodenal gut.

Литература

1. Вракин, В. Ф. Анатомия и гистология домашних птиц / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова М. : Колос, 1984. С. 147-156.
2. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. Л. :Медгиз, 1961, 1969. С. 1-14.
3. Семченко, В. В. Гистологическая техника / В. В. Семченко, С. А. Барашкова. Омск, 2003. С. 25-26.
4. Шестаков, В. А. Особенности морфологии кишечника кур / В. А. Шестаков, Н. П. Жабин // Морфология и гистохимия сельскохозяйственных животных и пушных зверей в сравнительно-видовом и возрастном аспектах: Сб. тр. /ОМСХИ. Омск, 1986. С. 77-82.

УДК 619:616.98:579.86:636.932.3

Л.В. Шевченко, А.А. Шевченко, О.Ю. Черных

Кубанский государственный аграрный университет, ГУ Краснодарского края «Кропоткинская зональная ветеринарная лаборатория»

АССОЦИИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И СТРЕПТОКОККОЗА НУТРИЙ

Самой надежной защитой нутрий от инфекционных болезней является специфическая профилактика. Применение ассоциированных вакцин в звероводстве, включающих несколько антигенов, позволяет снизить стрессовые ситуации у животных и создать напряженный иммунитет в сжатые сроки (4,5). По мнению ряда авторов биопрепараты из местных штаммов возбудителей болезней обладают более высокими антигенными и иммуногенными свойствами и способствуют созданию иммунитета достаточной напряженности (6, 7, 8).

Цель и задачи

Разработать технологию изготовления ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза нутрий из выделенных возбудителей и изучить ее основные свойства в связи с отсутствием данного биопрепарата в России и за рубежом.

Материалы и методы

В качестве антигенов новой ассоциированной вакцины были использованы изо-

ляты *E. coli* O1, *S. typhimurium* 04 Bi, *Str. pneumoniae*, выделенные нами в период ассоциативной инфекции колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза нутрий в 2001 году в племязверосовхозе «Северинский» Тбилисского района Краснодарского края. Изучение основных свойств, идентификацию, определение патогенности и серотиповой принадлежности проводили на кафедре микробиологии КГАУ и ГУ «Кропоткинская зональная ветеринарная лаборатория» согласно действующим методическим указаниям.

В качестве инактиватора использовали химический чистый формалин с активностью формальдегида 36-37%. Для усиления иммунного ответа применяли 3-6% раствор гидрата окиси алюминия.

Основные свойства вакцины (безвредность, иммуногенность, реактогенность) изучали на белых мышах весом 18-20 г и нутриях 30-60 дневного возраста, иммунизируя их подкожно и внутримышечно соответственно.

Таблица 1

**Влияние соотношения компонентов в ассоциированной вакцине
против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий на ее иммуногенность**

Вакцина	Соотношение антигенов возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза	Адъювант, %	Безвредность	Результаты заражения возбудителями сальмонеллеза, стрептококкоза и колибактериоза через 14 суток								
				S. typhimurium O4 Vi			Str. pneumoniae			E. coli O1		
				Кол-во животных	Пало животных	Выжило животных	Кол-во животных	Пало животных	Выжило животных	Кол-во животных	Пало животных	Выжило животных
Ассоциированная против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий	1:1:1	10	—	10	2	8	10	4	6	10	0	10
	1:1:2	20	—	10	0	10	10	2\	8	10	0	10
	1:1:3	30	-	10	3	7	10	1	9	10	3	7
Контроль, непривитые	—	—	—	3	3	0	—	—	—	—\	—	—
Контроль, непривитые	—	—	—	—	—	—	3	3	0	—	—	—
Контроль, непривитые	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	0

Результаты исследований

В результате проведенных исследований была разработана технологическая схема изготовления ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий, включающая выделение, идентификацию, изучение основных свойств изолятов (штаммов) возбудителей, наработку бактериальной массы выделенных культур, инактивацию биомассы, стандартизацию ее, смешивание антигенов в определенном соотношении, адсорбирование их, фасовку, этикетировку с периодическими контролями на чистоту роста, полноту инактивации и бактериальную стерильность. Установлено, что выделенные изоляты E. coli O1, S. typhimurium O4 vi, Str. pneumoniae накапливались в мясопептонном бульоне (МПБ) с добавлением 40% раствора глюкозы до 0,2–1% конечной концентрации при pH 7,2–7,4 с последующим инкубированием при температуре 37° С в течение 12Х24 ч с активностью 4-12 млрд микробных клеток в 1 мл по оптическому стандарту ГИСК им. Тарасевича. Проверку на чистоту роста выделенных культур проводили на МПА, в МПБ, средах Эндо, Плоскирева, окраской по Граму

При выборе и отработке режимов инактивации биосырья учитывали эффек-

тивность формалина при производстве многих отечественных и зарубежных вакцин, при этом принимали во внимание действие температуры как фактора, ускоряющего процесс (9, 10). Полноту инактивации возбудителей определяли путем посева на стерильные питательные среды (МПА, МПБ, среды Эндо и Плоскирева, окраска по Граму) и микроскопией в течение 10 суток, а также при необходимости заражением исследуемым материалом белых мышей и наблюдением за их клиническим состоянием в течение 10 суток.

Установлено, что формалин в 0,4–0,5% концентрации при температуре 37°С в течение 2-4 суток, а при температуре 22±2°С в течение 3-14 суток подавляет инфекционность возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза, сохраняя при этом присущие им антигенные свойства. Все белые мыши после введения инаktivированного материала не заболели и остались живы в течение 10 суток наблюдения.

Инаktivированную бактериальную массу подвергали стандартизации путем разбавления ее формализованным физиологическим раствором до необходимой концентрации микробных клеток в 1 мл по оптическому стандарту ГИСК им. Тарасевича. Депонирование биомассы проводили путем внесения адъюванта – 3-6% гидро-

Определение иммунизирующей дозы ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий

Вакцина	Иммунизирующая доза, 10 ⁹ м.к.	Кол-во нутрий	Вирулентный возбудитель, \ доза, млрд. м.к./1 см ³	Результаты заражения возбудителями сальмонеллеза, стрептококкоза и колибактериоза через 14 суток								
				S. typhimurium O4Bi			Str. pneumoniae			E. coli 01		
				Заболело животных	Пало животных	Выжило животных	Заболело животных	Пало животных	Выжило животных	Заболело животных	Пало животных	Выжило животных
Ассоциированная против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий Контроль, непривитые	2,0	4	S. typhimurium O4 Bi, 50 млрд. м.к. Str. pneumoniae, E.coli 01 - 2 млрд. м.к.	0	0	4	0	0	4	0	0	4
	1,5	4		0	0	4	0	0	4	0	0	4
	1,0	4		0	0	4	1	1	3	0	0	4
	0,5	4		1	0	4	2	1	3	1	1	3
	0,25	4		2	1	3	3\	2	2	2	1	3
	–	4	50 млрд. м.к.	4	4	0				4	4	0
Контроль, непривитые	–	4	2 млрд. м.к.				4	4	0			
Контроль, непривитые	–	4	2 млрд. м.к.							4	4	0

та окиси алюминия до 20-30% к объему и выдерживания с ним в течение 12-24 ч при комнатной температуре. Учитывая, что иммунобиологические свойства ассоциированных вакцин зависят от правильного соотношения входящих в их состав компонентов, изучили влияние антигенов возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза на иммуно-генную активность ассоциированной вакцины путем однократной иммунизации белых мышей с интервалом 14 суток (таблица 1).

Из данных таблицы 1 видно, что ассоциированная вакцина против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий в соотношении антигенов колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза 1:1:2 и 20% гидроокисиалюминия после однократной иммунизации белых мышей подкожно в дозе по 0,5 см³ не вызывает у них поствакцинальных осложнений и через 14 суток после вакцинации обеспечивает 80% защиту против трех инфекций, что отвечает предъявляемым требованиям.

В дальнейшем была определена оптимальная иммунизирующая доза для нутрий. Для этого брали по 4 нутрии в возрасте 40-50 дней на каждую дозу вакцины и иммунизировали однократно внутримышечно в область бедра с последующим заражением через 14 суток всех вакцинированных

и не привитых животных смертельной дозой возбудителей: S. typhimurium O4 Bi, Str. pneumoniae, E. coli 01 и наблюдением за ними в течение 10 дней. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 видно, что иммунизирующей дозой для ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий является 1,5 млрд. микробных клеток по оптическому стандарту ГИСК им. Тарасевича, которая обеспечивает защиту привитых нутрий от вирулентных возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза при заболевании и гибели невакцинированных животных (контроль).

При определении иммуногенности трехвалентной вакцины выявлено, что после однократной внутримышечной прививки нутрий в возрасте 40-50 дней данным препаратом в дозе 1,0 см³ у животных через 14 суток формируется напряженный иммунитет против трех инфекций, обеспечивая на 80% защиту против сальмонеллеза и колибактериоза, а против стрептококкоза – на 60%.

Установлено, что ассоциированная вакцина против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза при оптимальном соотношении компонентов с адъювантом после двукратной иммунизации нутрий: первая

Эффективность вакцин для профилактики ассоциативной инфекции нутрий

Контроль (непривитые)				Вакцина против пастерелле- за и стрептококкоза нутрий				Ассоциированная вакци- на против колибактери- оза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий			
Опыт №	Кол-во животных		Сохран- ность, %	Опыт №	Кол-во животных		Сохран- ность, %	Опыт, №	Кол-во животных		Сохран- ность, %
	в начале опыта	в конце опыта			в начале опыта	в конце опыта			в начале опыта	в конце опыта	
1	50	5	10,00	1	365	66	18,08	1	365	363	99,45
2	50	7	14,00	2	373	57	15,28	2	373	370	99,19
3	50	4	8,00	3	357	90	25,21	3	357	356	97,71
M± m	50,00± 0,00	5,33± 0,88	10,67± 1,76	M± m	365,00± 4,62	71,00± 9,85	19,52± 2,95	M± m	365,00 ±4,62	363,00± 4,04	99,45± 0,15

доза 1,0 см³, вторая – 1,5 см³ через 10 суток после первой, формирует напряженный иммунитет через 14 суток после ревакцинации, обеспечивая 100% защиту против колибактериоза, сальмонеллеза и 80% защиту против стрептококкоза, поствакцинальных осложнений не отмечали.

Учитывая, что одним из основных показателей вакцин является их безвредность, произвели оценку ассоциированной вакцины по данному показателю на белых мышах и нутриях при внутримышечном и подкожном методах введения соответственно в дозах, превышающих вакцинальные в 5-10 раз. Установлено, что ассоциированная вакцина против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий является безвредной как для взрослых белых мышей, так и для молодняка нутрий с 30-дневного возраста. Все испытанные дозы ассоциированной вакцины не вызывали у подопытных животных в месте введения поствакцинальных осложнений (воспаление, припухлости, абсцессы, хромата).

Таким образом, в экспериментальных условиях ассоциированная вакцина против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий после одно- и двукратной прививки зверей не вызывает поствакцинальных осложнений, обеспечивает формирование напряженного иммунитета и защиту.

После получения положительных результатов по иммунизации белых мышей и нутрий в лабораторных условиях ассоциированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий, были проведены опыты по сравнительной эффективности данного биопрепарата с коммерческой вакциной против пастереллеза и стрептококкоза

нутрий для профилактики ассоциативной инфекции колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза нутрий в племзверосовхозе «Северинский» Тбилисского района Краснодарского края. С этой целью молодняк нутрий в возрасте 40–60 дней иммунизировали ассоциированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий двукратно: первая доза - 1,0 см³, вторая - 1,5 см³ с интервалом 10 суток. Коммерческим биопрепаратом животных прививали в соответствии с «Временным наставлением по применению вакцины против пастереллеза и стрептококкоза нутрий». Результаты исследований представлены в таблице 3.

Из данных таблицы /видно, что при иммунизации нутрий в неблагополучном по колибактериозу, сальмонеллезу, стрептококкозу нутрий хозяйстве высокий процент эпизоотологической эффективности во всех трех опытах получен при применении ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий. Сохранность поголовья составляла 99,19–99,71%. В тех же условиях вакцина против пастереллеза и стрептококкоза нутрий обеспечивала сохранность нутрий 19,52±2,95%, что достоверно ниже ($P>0,001$) аналогичного показателя при использовании ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий в 5,0 раз.

В период 2001-2007 гг. в хозяйствах Краснодарского края ассоциированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий было иммунизировано 78500 нутрий. Осложнений, угнетения, отказа от корма, заболеваний и падежа животных не отмечено. При подведении итогов щенения иммунизированных самок зарегистрировано физиологически

нормальное течение беременности и щенения, увеличение выхода нутрий на самку. При выращивании зверьков повысилась их сохранность, молодняк хорошо рос и развивался.

Важнейшим практическим аспектом при применении ассоциированной вакцины явилось реальное сокращение сроков создания иммунного поголовья и 2-3 кратное снижение трудовых затрат для ветеринарных специалистов и звероводов.

Заключение

В результате проведенных исследований разработана технология изготовления ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий, позволяющая выпускать без-

вредный, высокоиммунно-генный биопрепарат, обеспечивающий после двукратной прививки не менее 80% защиту нутрий против трех инфекций.

Проведена патентная экспертиза, получено два патента: на способ изготовления и вакцину ассоциированную против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий.

По разработанной технологии изготовлено 15 серий ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий, апробировано с положительным результатом в нутриеводческих хозяйствах Краснодарского края, что позволило улучшить эпизоотическую ситуацию в регионе.

РЕЗЮМЕ

Представлены сведения о разработке технологии изготовления и изучения основных свойств ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий в экспериментальных и производственных условиях.

Литература

1. Миронова, Л.П. Типичный эпизоотический процесс сальмонеллеза нутрий в условиях мелкого нутриеводческого хозяйства //Л.П. Миронова, В.Ф. Косее, А.А. Миронова //Диагностика, профилактика и лечение при инфекционных болезнях с.-х. животных. п. Персиановский, 2000. С. 31-33.
2. Есепенок, В.А. Вакцинопрофилактика стрептококкоза нутрий /В.А. Есепенок, А.Н. Панин, Х.С. Горбатова //Актуал. пробл. ветеринар.-санитар. контроля с.-х. продукции: материалы 2-й междунар. науч.-конф. М., 1997. Ч. 2. С. 125.
3. Панин, А.Н. Специфическая профилактика стрептококкоза и пастереллеза нутрий /А.Н. Панин, В.А. Есепенок, А.А. Конопаткин [и др.]. //Актуал. пробл. ветеринар.-санитар. контроля с.-х. продукции: материалы 2-й междунар. науч.-конф. М., 1997. Ч. 2. С. 7 \
4. Ахмедов, А.М. Сальмонеллезы молодняка /А.М. Ахмедов М.: Колос, 1983. 240 с
5. Вачугов, В.И. Ветеринарно-санитарные мероприятия при разведении нутрий /В.И. Вачугов// Кролиководство и звероводство. 1989. №2. С. 25-26.
6. Кадымов, Р.А. Пастереллез нутрий / Р.А. Кадымов, Э.М. Агаева, М.А. Курбанова, Н.М., Кулибекова //Ветеринария. 1990. №5. С. 34-36.
7. Маннапова, Р.Т. Коррекция иммуногенеза при профилактике ассоциативного сальмонеллезно-аскариозного заболевания поросят /Ветеринария. 1998. №1. С. 34-36.
8. Шульга, Н.Н. Ситуация по колибактериозу телят в Амурской области /Н.Н. Шульга, Н.В. Яковлева //Ветеринария. 2006. №7. С. 21-23. \
9. Бушуева, Н.Б. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов / Н.Б. Бушуева, М.Я. Ярцев // Ветеринария. 1997. №11. С. 23-25
10. Chapman, W.G. Inactivated rabies vaccine produced from the Flury LEP strain of virus grown in BHK-21 suspension cells /W.G. Chapman, J.A. Ranshaw, Joan Crick //Ann. Microb. 1983. v. 26. №6. С. 55-56.