

## ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И СТРЕПТОКОККОЗА НУТРИЙ

Шевченко Л.В., Черных О.Ю., Шевченко А.А.  
Кубанский государственный аграрный университет  
Краснодар, Россия

Специфическая профилактика инфекционных болезней в промышленном звероводстве была и остается одной из актуальных проблем. Это касается и таких широко распространенных заболеваний как колибактериоз, сальмонеллез, стрептококкоз, пастереллез, которые могут протекать самостоятельно и в ассоциациях.

Учитывая, что основным критерием целесообразности проведения специфической профилактики должны быть эпизоотологические показатели, нами проведен эпизоотологический анализ распространения инфекционных болезней нутрий в Краснодарском крае. Установлено, что в нозологическом профиле инфекционной патологии нутрий в Краснодарском крае с 1996 по 2006 годы доминируют стрептококкоз, колибактериоз и сальмонеллез.

Применение ассоциированных вакцин в звероводстве, включающих несколько антигенов, позволяет снизить стрессовые ситуации у прививаемых животных, уменьшить трудозатраты и создать напряженный иммунитет в сжатые сроки. Существующие моно и ассоциированные вакцины для специфической профилактики инфекционных болезней животных надежны, но их применение не всегда эффективно в связи с вариабельностью и постоянной мутацией возбудителей, особенно при возникновении сложной эпизоотической обстановки (одновременное возникновение двух или более инфекционных болезней в хозяйстве, населенном пункте). В таких ситуациях методы специфической профилактики должны основываться на применении ассоциированных вакцин, содержащих сероварианты возбудителей, которые выделяются от больных и павших животных в эпизоотическом очаге или комплексной иммунизации животных против ряда инфекций. По мнению ряда авторов, биопрепараты из местных штаммов возбудителей болезней обладают более высокими антигенными и иммуногенными свойствами и способствуют созданию иммунитета достаточной напряженности.

Задачей наших исследований было разработать технологию изготовления ассоциированной вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и стрептококкоза нутрий из выделенных возбудителей с учетом их активности и иммунобиологической совместимости.

В качестве антигенов новой вакцинной ассоциации были использованы изоляты *E. coli O1*, *Sal. typhimurium O4 Bi*, *Str. pneumoniae*, выделенные нами в период смешанной инфекции колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза нутрий в 2001 году в племзверосовхозе «Северинский» Тбилисского района Краснодарского края. Изучение основных свойств, идентификацию, определение патогенности и серотиповой принадлежности проводили на кафедре микробиологии и вирусологии КГАУ и ГУ «Кропоткинская зональная ветеринарная лаборатория» согласно действующим методическим указаниям.

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

В результате проведенных исследований установлено, что выделенные изоляты *E. coli O1*, *Sal. typhimurium O4 Bi*, *Str. pneumoniae* накапливались в мясопептонном бульоне (МПБ) с добавлением 40% раствора глюкозы до 0,2 - 1%-ной конечной концентрации при pH 7,2 – 7,4 с последующим инкубированием при температуре 37° С в течение 12 – 24 часов с активностью 4-15 млрд микробных клеток в 1 мл по стандарту мутности. Проверку на чистоту роста *E. coli O1*, *Sal. typhimurium O4 Bi* проводили на МПА, среде Эндо, Плоскирева, в МПБ, окраской по Граму, *Str. pneumoniae* - высевом в чашки Петри с МПА и добавлением 1% глюкозы, 5% дефибринированной крови кролика, окраской по Граму.

Выявлено, что при отдельной наработке бактериальных культур *E. coli O1*, *Sal. typhimurium O4 Bi*, *Str. pneumoniae* в бутылках емкостью 3-5 литров в МПБ с добавлением 40% раствора глюкозы до 0,2 - 1%-ной конечной концентрации при указанных выше параметрах накопление их составляло 4-15 млрд микробных клеток в 1 мл по стандарту мутности.

При выборе и отработке режимов инактивации биосырья учитывали эффективность фенола при производстве многих отечественных и зарубежных вакцин, при этом принимали во внимание действие температуры как фактора, ускоряющего процесс. Полноту инактивации возбудителя определяли путем посева на стерильные питательные среды (МПА, МПБ, среду Эндо, окраска по Граму) и микроскопией в течение 10 суток, а также при заражении исследуемым материалом белых мышей и наблюдением за их клиническим состоянием в течение 10 суток.

Установлено, что формалин в 0,4 - 0,5%-ной концентрации формальдегида при температуре 37°С в течение 3-5 суток, а при температуре 22±2°С в течение 5-6 суток подавляет инфекционность возбудителей колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза, сохраняя при этом присущие им антигенные свойства. Все белые мыши после введения инактивированного материала не заболели и остались живы в течение 10 суток наблюдения.

Учитывая, что иммунобиологические свойства ассоциированных вакцин зависят от правильного соотношения входящих в их состав компонентов, изучили влияние антигенов колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза на иммуногенную активность ассоциированной вакцины путем однократной иммунизации белых мышей массой 18-20 г. с интервалом 15 суток.

Для усиления иммуногенности ассоциированной вакцины после проверки полноты инактивации в баккультуру добавляли 3 - 6%-ный раствор гидрата окиси алюминия от 10 до 30% к объему, перемешивали, проверяли стерильность, иммуногенность, реактогенность.

В результате исследований установлено, что ассоциированная формолвакцина против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза нутрий в соотношении 1:2 антигенов и 20% гидроокисьалюминия после однократной иммунизации белых мышей подкожно в дозе 0,5 см<sup>3</sup> не вызывает у животных поствакцинальных осложнений и через 15 суток после вакцинации обеспечивает 80%-ную защиту против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза.

С целью определения оптимальной иммунизирующей дозы для нутрий, брали по 4 головы зверей в возрасте 40-50 дней на каждую дозу вакцины и иммунизировали однократно внутримышечно в область бедра.

В результате установлено, что иммунизирующей дозой для ассоциированной формолвакцины против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза нутрий является 1,5 млрд. микробных клеток по стандарту мутности, позволяющей защитить вакцинированных нутрий от данных вирулентных возбудителей при заболевании и гибели не вакцинированных животных (контроль).

Таким образом, была разработана технология изготовления ассоциированной формолвакцины против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза нутрий.

Получен патент на способ изготовления ассоциированной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза нутрий.

По разработанной технологии изготовлено 15 серий ассоциированной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против колибактериоза, сальмонеллёза и стрептококкоза нутрий, апробировано с положительным результатом в нутриеводческих хозяйствах Краснодарского края