

- Ю.Ю. Данко // Ветеринарный консультант. - 2004. - №23/24. - С.26.
3. Калмыков, В.М. Проблемы диагностики туберкулёза собак и кошек / В.М. Калмыков, А.Х. Найманов, М.С. Калмыкова. – Режим доступа: [http:// ветеринария.рф/blog/ epizooticheskie-osobennosti-tuberkuleza/problemy-diagnostiki-tuberkuleza-sobak-i-koshek/](http://ветеринария.рф/blog/epizooticheskie-osobennosti-tuberkuleza/problemy-diagnostiki-tuberkuleza-sobak-i-koshek/)
4. Масимов, Н.А. Инфекционные болезни собак и кошек : учеб. пособие / Н.А. Масимов, С.И. Лебедько.- Санкт-Петербург : Лань, 2009. - С.67-75.
5. Наставление по диагностике туберкулёза животных. - Москва, 2002. - 64 с.
6. Пономарёв, Ф.Г. Туберкулёз собак / Ф.Г. Пономарёв // Тр. Новочеркас. вет. ин-та им. Первой Конной Армии.- 1957. - Вып. 10. - С.133-137.
7. Ротов, В.И. Туберкулёз сельскохозяйственных животных / В.И. Ротов, П.И. Кокуричев, П.Е. Савченко. – Киев : Урожай, 1973. - С.297-305, 278-281.
8. Сафин, М.А. Современные методы диагностики и меры борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота / М.А. Сафин, Г.З. Идрисов, Д.Н. Мингалеев. – Казань, 2010. – 117 с.
9. Сафина, Ч.М. Диагностика туберкулёза у собак и кошек / Ч.М. Сафина // Ветеринарный консультант – 2005. - №5.- С.15-16.
10. Сафина, Ч.М. Туберкулёз собак и кошек как дополнительный источник возбудителя болезни / Ч.М. Сафина, М.А. Сафин // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных». – 2010. – С. 142-144.
11. Шуляк, Б.Ф. Руководство по бактериальным инфекциям собак / Б.Ф. Шуляк. -Москва, 2003. - Т.1.- С.174-238.
12. Miche, V. BCY nella diagnosi della tubercolosi del cane / V. Miche // Clin. Veter. - 1961. - Vol. 84, № 5. - P. 140-143.

УДК : 616.98:579.842.11-084:636.5 DOI: 10.17238/issn2072-2419.2018.4.23

ВАКЦИНА ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА ПТИЦ И СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛИБАКТЕРИОЗА ЦЫПЛЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Новикова О.Б. - к. вет. н, зав. отд. микробиологии, Павлова М.А.-младший науч. сотрудник (ВНИВИП – филиал ФНЦ «ВНИТИП РАН»), Крюкова В.В. - к.в.н. асс. каф. фармакологии и токсикологии (ФГБОУ ВО СПбГАВМ).

Ключевые слова: колибактериоз цыплят, живая вакцина, антиген, термолабильный экзотоксин, иммунизация, ферментативная активность сыворотки крови, концентрация микробных клеток. **Keywords:** colibacteriosis of chickens, live vaccine, antigen, immunization, pathological changes, microbial concentration.



РЕФЕРАТ

Целью работы было установление наиболее оптимальной протективной дозы для цыплят раннего возраста при создании простой в изготовлении, недорогой и эффективной вакцины против колибактериоза кур/

В результате серии опытов была происследована новая вакцина против колибактериоза цыплят, содержащая антиген из штамма *E.coli* Б-5 в концентрации $1,0 \times 10^6$ - $2,0 \times 10^6$ микробных клеток в 1 см³ растворителя – физиологического раствора. В одной серии опытов проводили иммунизацию вакцинным штаммом 22-дневных цыплят методом выпаивания в объёме 0,5 см³ с содержанием микробных клеток $1,0 \times 10^6$, $2,0 \times 10^6$ и $4,0 \times 10^6$ в 1 см³ физиологического раствора на голову ($5,0 \times 10^5$,

1,0x10⁶ и 2,0x10⁶ микробных клеток в 0,5 см³ соответственно). В другой серии опытов проводили иммунизацию 4-х дневных цыплят этим же вакцинным штаммом, выращенным при температуре 42°C, максимально адаптирующей вакцинный штамм к организму цыплят до 10-дневного возраста. Препарат использовали в дозе 0,5 см³ на одного цыплёнка, содержащей 1,0×10⁵-3×10⁵ микробных клеток в 1 см³ физиологического раствора. Данная концентрация для наиболее эффективной вакцинации была отобрана экспериментальным путём. Таким образом, установлено что лучший результат дает иммунизация препаратом в дозе 50 тысяч м.к., что лишь в одном случае вызвало незначительные поражения хронического характера, и полностью защищает цыплят от поражений при заражении вирулентной культурой кишечной палочки. Иммунизация в дозе 150 тысяч м.к. в 50% случаев вызывает осложнения по типу хронического воспаления и в 25% случаев защищает цыплят от поражений при заражении условно-патогенной для цыплят культурой кишечной палочки; иммунизация в дозе 500 тысяч м.к. в 75% случаев вызывает осложнения при иммунизации четырехдневных цыплят и на 25% защищает цыплят от поражений при заражении условно-патогенной для цыплят культурой кишечной палочки.

ВВЕДЕНИЕ

Колибактериоз относится к числу наиболее распространённых болезней птиц бактериальной этиологии в птицеводческих хозяйствах промышленного типа [6, 7]. Так как в большинстве случаев это заболевание является вторичным и развивается на фоне какой-либо вирусной инфекции, то правильно поставленный диагноз и эффективная специфическая профилактика в первые дни жизни является основой в борьбе с инфекцией [2]. Против колибактериоза существуют как инаktivированные, так и живые вакцины. Эта инфекция птицы наносит существенный экономический ущерб птицеводческим хозяйствам и включает ухудшение производственных показателей, гибель эмбрионов и цыплят, снижение привесов и яйценоскости, неравномерный или низкий прирост массы бройлеров, разнородность стада и увеличение падежа, неудовлетворительное развитие переболевшего молодняка, повышенную чувствительность к стрессам [1]. Наиболее восприимчивы к заражению *E.coli* цыплята в возрасте 1-10 дней, у которых заболевание может протекать в форме острого сепсиса. Восприимчивы также цыплята и другие виды птиц старшего возраста, у которых болезнь протекает с патологоанатомическими признаками серозно-фибринозного или фибринозного перикардита, перигепатита, аэросаккулита, геморрагического дуоденита.

В ранее проведенных исследованиях был сделан анализ спектра микрофлоры, выделенной в течение последних двух лет от птиц разных видов и из разных объектов в хозяйствах различного технологического направления, что показало доминирующую роль кишечной палочки, удельный вес которой составляет 42,3%. На долю другой кишечной микрофлоры приходилось 26%, и кокковой микрофлоры – 30,8%. Однако в отдельных хозяйствах процент выделения вирулентной кишечной палочки может быть выше, что зависит от эпизоотической ситуации на конкретной птицефабрике.

Для лечения колибактериоза широко используются антибиотики. Однако, как показывает мировой опыт их применения - они не всегда обладают должной эффективностью [3]. Наряду с соблюдением ветеринарно-санитарных правил, условий содержания и кормления ведущее место в комплексе мер борьбы с бактериальными болезнями занимает специфическая профилактика – вакцинация [5]. Против колибактериоза существуют как инаktivированные, так и живые вакцины. Целью нашей работы было установление наиболее оптимальной протективной дозы для цыплят раннего возраста при создании простой в изготовлении, недорогой и эффективной вакцины против колибактериоза кур

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изготовления вакцинного препарата был отобран штамм кишечной палочки *Escherichia coli* Б-5. Штамм выделен из селезенки павшего поросёнка 10-дневного возраста, депонирован в ВГНКИ. Штамм был изучен по основным морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим характеристикам с использованием общепринятых методов [4]. Продукт, синтезируемый штаммом *E.coli* Б-5 – термолабильный экзотоксин, не подверженный нейтрализации поливалентной антитоксической сывороткой против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных. В результате совместно Саратовской НИВС и ВНИВИП была создана вакцина против колибактериоза кур, в качестве антигена содержащая антиген из штамма *E.coli* Б-5 с содержанием $1,0 \times 10^6$ – $2,0 \times 10^6$ микробных клеток в 1 см³ растворителя – физиологического раствора. Данное содержание микробных клеток в суспензии было подобрано экспериментальным путём. Содержание клеток в 1 см³ менее чем $1,0 \times 10^6$ снижает эффективность вакцины, не обеспечивая защитную реакцию организма цыплят. Содержание микробных клеток более $2,0 \times 10^6$ в 1 см³ физиологического раствора делает вакцину более токсичной и негативно влияет на привесы. На момент описанных ниже исследований вакцина уже прошла многочисленные экспериментальные испытания с положительным результатом на птице других возрастных групп.

В ходе исследований были сформированы 4 группы цыплят 22-дневного возраста по 20 голов в каждой: 3 опытных и одна контрольная. Цыплятам опытных групп вакцину (выращенную при температуре 37 °C) вводили перорально в объёме 0,5 см³ с содержанием микробных клеток $1,0 \times 10^6$, $2,0 \times 10^6$ и $4,0 \times 10^6$ в 1 см³ физиологического раствора на голову ($5,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$ и $2,0 \times 10^6$ микробных клеток в 0,5 см³ соответственно). Контрольную группу цыплят не иммунизировали, выпаивали только стерильную дистиллированную воду. Через 23 дня после

иммунизации всех цыплят заражали перорально смесью вирулентных культур *E.coli* (серотипы O78 и O2) в дозе $6,0 \times 10^7$ микробных клеток в 0,5 см³ на голову.

В другой серии опытов были использованы 48 голов цыплят 4-х-дневного возраста. Цыплята были разделены на 4 группы по 12 голов в каждой: 3 опытные и одна контрольная. Для иммунизации цыплят до 10-дневного возраста использовали принцип адаптации вакцинного штамма к организму цыплят с помощью выращивания его при температуре эквивалентной температуре тела цыплят 41–42 °C. Данный штамм, выращенный при такой температуре, позволяет осуществить защиту цыплят до 10-дневного возраста от колибактериоза.

Цыплятам первой опытной группы препарат вводили методом выпаивания в разведении водой в соотношении препарата к воде 1:20 из расчета 50000 единиц живых микробных клеток штамма *E.coli* «Б-5» в 0,5 см физиологического раствора. Цыплятам второй группы препарат вводили аналогичным образом, но с содержанием 150000 единиц живых микробных клеток штамма *E.coli* «Б-5» в 0,5 см³ физиологического раствора. Цыплятам третьей группы – с содержанием 500000 единиц живых микробных клеток штамма *E.coli* «Б-5» в 0,5 см³ физиологического раствора. Цыплятам контрольной группы выпаивали стерильную дистиллированную воду. В возрасте 10 суток всех цыплят заражали перорально культурой *E.coli* O78 в дозе $2,0 \times 10^9$ микробных клеток (LD₅₀).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Протективное действие вакцины изучали при заражении иммунизированных цыплят вирулентными штаммами кишечной палочки. Через 12 дней после заражения иммунизированных цыплят 22-х-дневного возраста (в возрасте 57 дней) проводили взвешивание, вынужденный убой всех цыплят и патологоанатомическое исследование трупов. Эффективность вакцинации учитывали по изменению среднесуточных привесов и частоте встречаемых патологоанатомических изменений.

ческих признаков. Наибольшие привесы были выявлены в группах, иммунизированных дозами $5,0 \times 10^5$ и $1,0 \times 10^6$ микробных клеток. В контрольной группе наблюдали снижение массы тела.

При патологоанатомическом исследовании в контрольной группе у всех цыплят были отмечены признаки колибактериоза – фибринозный перикардит и токсическая дистрофия печени.

После заражения иммунизированных цыплят 4-х дневного возраста, через 9 дней проводили вынужденный убой всей птицы.

При патологоанатомическом исследовании было установлено, что часть птиц имела поражения, характерные для хронического колибактериоза (очаговые отложения фибрина под эпикардом, дистрофия печени и др.), часть птиц имела поражения, характерные для острого колибактериоза (слипчивый плевроперикардит, обширная дистрофия печени с кровоизлияниями под капсулу и т.п.). В контрольной группе пало 8 цыплят.

Положительная динамика среднесуточных привесов у иммунизированных цыплят после заражения вирулентными штаммами кишечной палочки, а также наименьший процент патоморфологических изменений внутренних органов свидетельствуют о том, что подобранное экспериментальным путём содержание микробных клеток в иммунизирующей дозе достаточно для защиты цыплят от колибактериоза, и не оказывает негативного влияния на рост и развитие цыплят.

В результате исследований установлено:

- иммунизация препаратом в дозе 50 тысяч м.к. лишь в одном случае вызвала незначительные поражения хронического характера и полностью защищает цыплят от поражений при заражении вирулентной культурой кишечной палочки;

- иммунизация в дозе 150 тысяч м.к. в 50% случаев вызывает осложнения по типу хронического воспаления и в 25% случаев защищает цыплят от поражений при заражении условно-патогенной для цыплят культурой кишечной палочки;

- иммунизация в дозе 500 тысяч м.к. в 75% случаев вызывает осложнения при иммунизации четырехдневных цыплят и на 25% защищает цыплят от поражений при заражении условно-патогенной для цыплят культурой кишечной палочки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан способ профилактики колибактериоза цыплят раннего возраста, заключающийся в пероральном введении вакцинного препарата на основе антигена из штамма *E.coli* «Б-5» из расчёта 0,5 см³ на голову. В качестве вакцины используют препарат с содержанием $1,0 \times 10^5$ – 3×10^5 микробных клеток штамма *E.coli* «Б-5» в 1 см³ физиологического раствора, который вводят методом выпаивания при соотношении препарата к воде 1:15-25, при этом используют штамм *E.coli* «Б-5», выращенный при 42°C

Разработанная вакцина эффективна, обладает протективными свойствами за счёт формирования антитоксического иммунитета, не требует специального оборудования для изготовления, имеет низкую себестоимость, проста в применении.

Применение вакцины против колибактериоза птиц способствует значительному снижению частоты встречаемых патологоанатомических признаков, характерных для колибактериоза, способствуют созданию эпизоотического благополучия в отношении этой инфекции.

VACCINE AGAINST COLIBACTERIOSIS OF BIRDS AND THE PREVENTIVE METHOD OF COLIBACILLOSIS OF EARLY AGE CHICKENS. Novikova O., Phd of veterinary medicine, chief of microbiology department, Pavlova M., senior research worker (Russian scientific-research veterinary institute of poultry - department FSC «VNITIP» RAS, Saint-Petersburg), Kryukova V. Phd of veterinary medicine, assistant of Pharmacology and Toxicology (Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine).

ABSTRACT

Colibacteriosis persists to stay one of main secondary infection of poultry farms, bringing great economic losses. It is better to take

correct preventive measures than to treat birds. There are both inactivated and live vaccines against colibacteriosis. The aim of our work was to create an effective vaccine against this infection, in this article assays dedicated to measurement of protective vaccine concentrations are described. As a result of a series of experiments, a new vaccine against colibacteriosis of chickens, containing an antigen from the strain of *E.coli* B-5 in a concentration of $1,0 \times 10^6$ - $2,0 \times 10^6$ microbial cells in 1 cm³ of the solvent – physiological solution, was investigated. In one series of experiments, immunization of 22-day chickens per os with a vaccine strain in the volume of 0.5 cm³ with the content of microbial cells $1,0 \times 10^6$, $2,0 \times 10^6$ and $4,0 \times 10^6$ in 1 cm³ of physiological solution per head ($5,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^5$ and $2,0 \times 10^5$ microbial cells in 0.5 cm³, respectively) was used. In another series of experiments, immunization of 4-day –old chickens with the same vaccine strains grown at a temperature of 42 °C was performed, this temperature range maximally adapts the vaccine strain to the body of chickens up to 10 days of age. Chickens were vaccinated with dose of 0.5 cm³, containing microbial cells 1.0×10^5 - 3×10^5 in 1 cm³, it is equal to solution 1:20. For the best result of vaccination this concentrations was established experimentally. We can conclude that, the developed vaccine is effective, harmless, has high immunogenic and protective properties due to the formation of antitoxic immunity, does not require special equipment for manufacturing and is easy for administration.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винокуров, В.Ю. Колибактериоз (эшерихиоз) кур (эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы) : дис. ... канд. вет. наук / В.Ю. Винокуров. – Персиановский, 2010. - 120 с.
2. Дмитриева, М.Е. Поставили диагноз колибактериоз? Вы не ошиблись? / М.Е. Дмитриева, И.М. Алхлаев // *Farm Animals*. - 2014. - № 3 (7). - P. 62-64.
3. Макавчик, С.А. Колибактериоз птиц: особенности экспресс-диагностики, профилактики и лечения : дис. ... канд. вет. наук / С.А. Макавчик. – Санкт-Петербург, 2007.- 156 с.
4. Малинин, М.Л. Характеристика свойств различных вирулентных для птиц штаммов *Escherichia coli* и их способность продуцировать токсины / М.Л. Малинин, Е.И. Тихомирова, К.П. Габалов // *Фундаментал. исследования*. – 2009. – № 4. – С. 34-38.
5. Орехов, Д.А. Иммунобиохимическая характеристика крови птицы при применении инактивированной липосомальной вакцины против колибактериоза : дис. ... канд. вет. наук. – Санкт-Петербург, 2007. – 132 с.
6. Apajalahti, J. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken / J. Apajalahti, A. Kettunen, H. Graham // *World's Poultry Sci. J.* - 2004.- Vol. 60. - P. 223-232.
7. Mojtaba Bonyadian. Study on the bacterial contamination of eggs produced in center of Iran / Mojtaba Bonyadian, Hamb Allah Moshtaghi // *The 15th Congress & Exhibition of the World Veterinary Poultry Association*. - 2007. - P. 507.