DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-5-11
УДК 57.083.132

Получение и изучение эффективности инактивированной вакцины против сальмонеллеза свиней

Школьников Е.Э.
Shkolnikov E.I.

Школьников Е.Э., канд.вет.н., заведующий отдела противобактериальных препаратов
Павленко И.В., д.техн.н., вед.науч.сотр. отдела противобактериальных препаратов
Анисимова Л.В., канд.биол.н., ведущий научный сотрудник отдела противобактериальных препаратов
Раевский А.А., к. биол. н. зам. директора
Коротеева Л.А., канд.биол.н., ведущий научный сотрудник отдела противобактериальных препаратов
Гринь С.А., член-корр. РАН, д.биол.н. директор ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (г.Щелково, Московской области) E-mail: vnitibp@mail.ru

Ключевые слова: сальмонеллез свиней, вакцина, штаммы сальмонелл, культивирование, инактивация, иммунобиологические свойства, доза препарата.

Резюме. В статье рассмотрены результаты исследований получения новой инактивированной вакцины против сальмонеллеза свиней. Определены основные параметры технологии производства вакцины против заболеваний свиней сальмонеллезной этиологии, установлены основные иммунобиологические показатели применения новой вакцины, дана экономическая и биологическая оценка технологии производства препарата.

Введение

Успех специфической профилактики инфекционных болезней животных во многом зависит от качества выпускаемых биопрепаратов, которое определяется свойствами производственных штаммов микроорганизмов, технологией и условиями производства (6). Для нужд ветеринарной практики в России в настоящее время выпускается свыше 50 наименований бактериальных вакцин. Номенклатура этих препаратов периодически изменяется в связи с эпизоотологической ситуацией и разработкой новых вакцин, обладающих более высокой активностью.

Свиноводство в нашей стране является одним из основных источников производства мяса и жира животного происхождения. На фоне специфических условий и, в частности, в связи с концентрацией большого количества свиней на ограниченных территориях возросла роль болезней, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, в том числе бактериями из рода *Salmonella* (11, 14).

Проблема борьбы с сальмонеллезом свиней в настоя-

Obtaining and examining the effectiveness of inactivated vaccine against salmonella in pigs

Shkolnikov E.I., Pavlenko I. V., Anisimova L.V.,
Raevsky A.A., Koroteeva L.A., Grin S.A.,

Keywords: salmonellosis of pigs, vaccine, *Salmonella* strains, cultivation, inactivation, immunobiological properties, dose.

Abstract. The article discusses the results of research of obtaining new inactivated vaccine against salmonellosis of pigs. The main parameters of the production technology of a vaccine against swine diseases of *Salmonella* etiology were determined, the main immunobiological indicators of the use of a new vaccine were established, the economic and biological assessment of the production technology of the drug was given.

щее время стоит особенно остро, так как каждая вспышка инфекции наносит значительный экономический ущерб.

Наиболее эффективной и экономически целесообразной мерой в борьбе с этими болезнями является специфическая профилактика, применяемые на ослабленном иммунодефицитном поголовье свиней, не всегда оказываются достаточно эффективными (2,6,12).

Существующие инактивированные корпускулярные вакцины обладают высокой реактогенностью, токсичностью и недостаточной иммуногенностью. Живые вакцины, имеющие более высокую иммуногенность, могут вызывать вспышки болезни у привитых животных из-за реверсии вакцинных штаммов в вирулентное состояние при многократных пассажах на ослабленном поголовье с иммунодефицитным состоянием (1,5,9,10,12).

В научной литературе имеются сведения о проведении работ по созданию вакцин из антигенных комплексов, в частности, по разработке препарата на основе лизат-антигенов для профилактики сальмонеллеза поросят послеродового периода (4,7,8).

Исследованиями установлено, что применение подобного препарата позволяет получать напряженный специфический иммунитет в более раннем возрасте - заболеваемость и общий отход поросят подсосного периода снижались на 7–11%, а сохранность поросят в период доразрешения повышалась на 25% (13). В свете изложенного становится очевидной необходимость разработок новых средств специфической профилактики сальмонеллеза свиней.

Материалы и методы исследований

Исследования проводились в отделе бактериальных препаратов ФГБНУ ВНИТИБП. В работе использовали аттенуированные штаммы *Salmonella* *tiphimurium* № 415 и *Salmonella* *choleraesuis* № 370.

Выращивание сальмонелл проводили с использованием ранее разработанной нами питательной среды на основе перевара Хоттингера в лабораторных ферментерах АНКУМ-2М, оснащенных системами автоматического контроля и регулирования основных параметров культивирования (температура, pH, eH и pO₂), по разработанному нами режиму.

В процессе выращивания культуры сальмонелл исследовали по следующим показателям: морфология, культуральные свойства, оптическая плотность.

Для получения лизат-антигенов сальмонелл использовали гидроксилламин солянокислый в качестве дезинтегрирующего агента.

Осаждение антигенов проводили с помощью двузамещенного фосфорнокислого кальция. Для этого использовали реакцию между двузамещенным фосфорнокислым натрием и хлористым кальцием.

Для цитирования / For citation

Получение и изучение эффективности инактивированной вакцины против сальмонеллеза свиней / Е.Э.Школьников [и др.] // Ветеринария и кормление. - 2019. - №5. - С. 31-32
Obtaining and examining the effectiveness of inactivated vaccine against salmonella in pigs / E.I.Shkolnikov [et.al.] // Veterinaria i kormlenie. - 2019. - №5. - P.31-32

Лабораторные испытания экспериментальных образцов вакцин проводили в опытах на кроликах и беспородных белых мышах, производственные испытания – на супоросных свиноматках и поросятах послеотъемного периода. Для проведения исследований препарат готовили путем смешивания равных объемных количеств антигенов из культур двух штаммов сальмонелл. В опытах на кроликах определяли оптимальную дозу препарата и его безвредность. Препарат вводили однократно внутримышечно в дозах 300 млн.м.т. (1-я группа); 3 млрд.м.т. (2-я группа); 6 млрд.м.т. (3-я группа); 12 млрд.м.т. (4-я группа); 24 млрд.м.т. (5-я группа); 48 млрд.м.т. (6-я группа). После иммунизации у кроликов не наблюдалось каких-либо изменений клинического статуса, хотя даже наибольшая доза (48 млрд.м.т.) свидетельствовали о безвредности испытуемого препарата.

От иммунизированных кроликов брали кровь через каждые 7 суток до 49-го дня включительно и в сыворотке крови определяли количество агглютининов в РА к каждому антигену, входящему в состав препарата. Через 7 суток после иммунизации наблюдалось повышение титров агглютининов у животных всех 6-ти групп ко всем антигенам.

Нарастание уровня агглютининов продолжалось до 28-го дня. Однако это повышение было более существенным у кроликов со 2-ой по 6-ую группу по сравнению с 1-ой группой. После этого наметилась тенденция к снижению, и к 49-му дню уровень агглютининов у 1-ой группы кроликов был значительно ниже, чем у всех остальных. Таким образом, установлено, что оптимальной иммунизирующей дозой препарата для кроликов является доза 3 млрд.м.т.

Изучение иммуногенной активности препарата проводилось в опыте на белых мышах, которым однократно подкожно в область спины вводили двухкомпонентный препарат в дозе 300 млн.м.т. на мышь.

Установлено, что ЛД₅₀ культуры *S. choleraesuis* для иммунизированных мышей составила 80 микробных клеток, а для контрольных – 8 микробных клеток; ЛД₅₀ культуры *S. typhimurium* для опытной группы мышей составила 5000 микробных клеток, тогда как для мышей контрольной группы этот показатель был равен 80 микробным клеткам. Следовательно, однократная иммунизация мышей препаратом в дозе 300 млн.м.т. обеспечивает повышение устойчивости к заражению *S. choleraesuis* в 10 раз, а к *S. typhimurium* в 63 раза по сравнению с не иммунизированными животными.

Результаты

Испытание опытных серий препарата (безвредность, реактогенность и иммуногенность) провели на продуктивных животных (свиноматки и поросята). Для изучения безвредности препарата 5-ти свиноматкам за 8 дней до опроса и 10-ти поросётам 35-дневного возраста его ввели однократно, внутримышечно в область шеи в дозе – 45 млрд.м.т. и 9 млрд.м.т. соответственно, что составило по 3 прививочные дозы. За время наблюдения (10 суток) не были отмечены отклонения в состоянии здоровья – все животные были активны и хорошо поедали корм. Следовательно, трехкратные дозы препарата 45 млрд.м.т. для свиноматок и 9 млрд.м.т. для поросётов являлись безвредными.

Реактогенность препарата изучали аналогично безвредности, только свиноматкам и поросётам вводили по 1 иммунизирующей дозе. Препарат показал свою ареактогенность. При изучении иммуногенной активности препарата установлено, что однократная вакцинация препаратом супоросных свиноматок за 18–20 дней до ожидаемого опороса обеспечивает образование и накопление агглютининов в сыворотке крови и молозиве в высоких титрах, обуславливая колостральный иммунитет против сальмонеллеза у полученных от этих свиноматок поросят.

Колостральный иммунитет против сальмонеллеза у поросят сохраняется до 30–35-дневного возраста. Поэтому активную иммунизацию поросят целесообразно проводить в возрасте 30–35 дней. Такая схема иммунизации обеспечивает защиту поросят до 110–120-дневного возраста.

Заключение

Экспериментальная серия препарата при его применении в качестве средства профилактики в низких дозах в условиях неблагополучного хозяйства позволила повысить

сохранность в опытных группах поросят на 25% по сравнению с контрольными группами. Эти данные позволяют рассматривать препарат как перспективный для создания высоко-иммуногенной, ареактогенной вакцины для профилактики сальмонеллеза свиней.

Литература

1. Ахмадеев Р.М., Алимов А.М., Ахмадеева Х.Р. Разработка вакцины для специфической профилактики сальмонеллеза у свиней. - Изучение иммуногенности инактивированных вакцин с различными адъювантами // Ветеринарная патология. 2003. 91. С. 142-144.
2. Бурлуцкий И.Д. Колибактериоз и сальмонеллез поросят и их специфическая профилактика // Автореф. Дисс. Док. Вет. Наук. Л., 1989, 39 с.
3. Гайдамак А.В. Исследование иммунологического статуса свиней в промышленных комплексах в связи с вакцинопрофилактикой сальмонеллеза. // Дисс.... Канд.биол.наук. Харьков, 1990, 150 с.
4. Коротева Л.А., Раевский А.А., Ярцев М.Я., Анисимова Л.В., Бушуева Н.Б., Питательная среда на основе сухого белкового концентрата (СБК) для культивирования сальмонелл // Тез. докл. Всероссийской научно-практической конференции "Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов". Щелково, 2000, С. 174-175.
5. Костроминов Н.А., Домский И.А., Бояринцев Л.Е. Поливалентная инактивированная, гидроокисьюалюминиевая вакцина против сальмонеллеза сельскохозяйственных животных. Бюл. ВИЭВ. 1989, 71, С. 67-71.
6. Максимович В.В. Сальмонеллез свиней // Автореф. дисс. докт. вет. наук. Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Н.Вышелесского, Минск, 1995, 36с.
7. Меньшенин В.В., Школьников Е.Э., Раевский А.А., Анисимова Л.В., Коротева Л.А. Культивирование вакцинных штаммов сальмонелл с использованием питательных сред из нетрадиционных источников сырья // Достижение науки и техники АПК. 2010, 8, С. 65.
8. Меньшенин В.В., Школьников Е.Э., Раевский А.А., Оптимизация условий культивирования сальмонелл с использованием питательных сред на основе перевара Хоттингера // Ветеринария и кормление. 2010, 5, С. 8-9.
9. Русалеев В.С. Разработка инактивированных вакцин против сальмонеллеза и пастереллеза свиней // Современные аспекты патологии животных. Владимир. 1999, С. 141-147.
10. Самуйленко А.Я., Раевский А.А., Школьников Е.Э., Анисимова Л.В., Еремец В.И., Фролов И.Ю. Перспективные направления в технологии культивирования бактерий при производстве вакцин для ветеринарной медицины // Мат. Межд.науч.-практ. конф. "Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов". Щелково, 2005, С. 298-301.
11. Сидоров М.А. Основы профилактики болезней новорожденных телят и поросят // Ветеринария. 1987, 2, С. 10-12.
12. Степанов В., Федюк В. Резистентность, иммунореактивность и бактерионосительство свиней. Вакцинация против сальмонеллеза // Свиноводство, 1999, №3, С. 17-19.
13. Субботин В.В., Сидоров М.А. Иммуногенные свойства лизат-антигенов из сальмонелл, эшерихий и стафилококка // Ветеринария, 1996, 4, С. 24027.
14. Хорш Ф. Иммунопрофилактика в свиноводстве // Иммуно-профилактика болезней животных. М.: Колос, 1981, С. 306-332.

References

1. Akhmadeev R.M., Alimov A.M., Akhmadeeva H.R. Development of a vaccine for the specific prevention of salmonellosis in pigs. - The study of the immunogenicity of inactivated vaccines with various adjuvants // Veterinary pathology. 2003. 91.P. 142-144.
2. Burlutsky I.D. Colibacteriosis and salmonellosis of piglets and their specific prophylaxis // Abstract. Diss. Doc Vet. Science. L., 1989, 39 p.
3. Gaydamak A.V. The study of the immunological status of pigs in industrial complexes in connection with the vaccination of salmonellosis. // diss. Candidate of Biological Science Kharkov, 1990, 150 p.
4. Koroteeva L.A., Raevsky A.A., Yartsev M.Ya., Anisimova L.V., Bushueva N.B. Nutrient medium based on dry protein concentrate (SBC) for the cultivation of salmonella // Thes. doc. All-Russian scientific-practical conference "Scientific basis for the production of veterinary biological products." Schelkovo, 2000, S. 174-175.
5. Kostrominov N.A., Domsy I.A., Boyarintsev L.E. Polyvalent inactivated, aluminum hy-droxide salmonella vaccine in farm animals. Bull. VIEV. 1989, 71, S. 67-71.
6. Maksimovich V.V. Salmonellosis of pigs // Abstract. diss. Doct. vet. Sciences. Belorussian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine. N. Vysheslesky, Minsk, 1995, 36 p.
7. Menshenin V.V., Shkolnikov E.E., Raevsky A.A., Anisimova L.V., Koroteeva L.A. The cultivation of vaccine strains of Salmonella using nutrient media from unconventional sources of raw materials // Achievement of science and technology of the agricultural sector. 2010, 8, p. 65.
8. Menshenin V.V., Shkolnikov E.E., Raevsky A.A., Optimization of the conditions for the cultivation of salmonella using nutrient media based on the Hottinger digest // Veterinary Medicine and Feeding. 2010, 5, С. 8-9.
9. Rusaleev V.S. The development of inactivated vaccines against salmonellosis and pig pasteurellosis // Modern aspects of animal pathology. Vladimir 1999, S. 141-147.
10. Samuilenko A.Ya., Raevsky A.A., Shkolnikov E.E., Anisimova L.V., Yeremets V.I., Frolov I.Yu. Promising directions in the technology of cultivation of bacteria in the production of vaccines for veterinary medicine // Mat. Int.Sci. conf. "Scientific basis for the production of veterinary biological products." Schelkovo, 2005, S. 298-301.
11. Sidorov M.A. Fundamentals of the prevention of diseases of newborn calves and piglets // Veterinary medicine. 1987, 2, S. 10-12.
12. Stepanov V., Feduk V. Resistance, immunoreactivity and bacterial carriage of pigs. Vaccination against salmonellosis // Pig production, 1999, No. 3, S. 17-19.
13. Subbotin V.V., Sidorov M.A. Immunogenic properties of lysate antigens from salmonella, Escherichia and staphylococcus // Veterinary medicine, 1996, 4, p. 24027.
14. Horsch F. Immunoprophylaxis in pig production // Immunoprophylaxis of animal diseases. M.: Kolos, 1981, S. 306-332.