



НПП «АВИВАК»



20 лет

*на благо
промышленного
птицеводства*



«АВИВАК» – ГАРАНТИЯ ЗДОРОВЬЯ ВАШЕЙ ПТИЦЫ



АВИВАК-НБ

вакцина против
ньюкалской болезни,
живая, сухая



АВИВАК-РЕО

вакцина против
реовирусного теносинита кур,
живая, сухая



АВИВАК-ИБК+НБ

вакцина против
инфекционного бронхита кур
и ньюкалской болезни,
живая, сухая



АВИВАК-ИБК

вакцина против
инфекционного бронхита кур,
живая, сухая



АВИВАК-ИББ-М

вакцина против
инфекционной бурсальной болезни,
живая, сухая



АВИВАК-ИЛТ

вакцина против
инфекционного
ларинготрахеита птиц,
живая, сухая



АВИВАК-ИББ-АН

вакцина против
инфекционной бурсальной болезни,
живая, сухая



АВИВАК-ОСПА

вакцина против
оспы птиц



АВИВАК-МАРЕК

вакцина против
болезни Марек

Наборы для диагностики
инфекционных болезней
птиц методом
иммуноферментного
анализа



Инактивированные вакцины для птиц



НПП «АВИВАК»

188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
тел.: (812) 346 5854, 346 5853
факс: (812) 703 1152
e-mail: AVIVAC@sovintel.ru

105120, Москва,
3-й Сыромятнический пер., 3/9
тел.: (495) 785 1801 (многоканальный)
e-mail: AVIVAC@list.ru

WWW.AVIVAC.COM



НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«АВИВАК»

20 лет
на благо
промышленного
птицеводства



Санкт-Петербург
2010



Уважаемые коллеги!

Стало хорошей традицией, говоря об успехах российской экономики, приводить в качестве примера птицеводческую отрасль. За прошедшие два десятилетия птицеводство России, пройдя тяжелейший путь от почти полного развала, сумело не только восстановиться, но и стать на качественно новый уровень, превзойдя показатели «эталонного» 1990 года по производству мяса птицы. К 2008 году отечественное птицеводство превратилось в самую устойчивую и динамично развивающуюся отрасль агропромышленного комплекса страны. Отечественные производители сумели обеспечить население России широчайшим ассортиментом мясной и яичной продукции. Глобальный экономический кризис не мог не затронуть отрасль; он приостановил, несколько замедлил поступательное движение российского птицеводства. Но нам ли, испытавшим развал страны, экономические катаклизмы девяностых пугаться кризиса? По большому счету все двадцать лет отрасль работала в условиях кризиса. Успехи промышленного птицеводства – успехи тех людей, которые в настоящее время продолжают руководить своими производствами. Они поднимали свои предприятия из руин, создавали компании из ничего. И сейчас они сохраняют и приумножают то, что было рождено в муках.

Говоря о достигнутых в предыдущие годы успехах отрасли, следует постоянно помнить, что, в значительной степени, эти результаты были достигнуты благодаря обеспечению ее биобезопасности. То есть благодаря постоянной реализации целого комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий, в ряду которых основными являются диагностика и вакцинопрофилактика. Предупредить болезнь всегда дешевле, чем от нее избавиться.

Двадцать лет вопросы диагностирования и вакцинации успешно решает Научно-производственное предприятие «АВИВАК», являющееся одним из ведущих отечественных производителей диагностических препаратов, биологических препаратов для профилактики заболеваний промышленной птицы. «АВИВАК» – имя, известное всем российским птицеводам. История этого предприятия сродни истории отрасли. Постепенный подъем, расширение ассортимента, улучшение качества производимой продукции. Наконец, выход на стратегические просторы, обеспеченные последней модернизацией производства.

Юбилейная научно-практическая конференция «Белые ночи – 2010» – это продолжение традиции каждое лето обсуждать актуальные проблемы промышленного птицеводства. Это продолжение большой творческой совместной работы науки и производства, свободный обмен мнениями по значимым, актуальным и интересным вопросам, неформальные контакты и дружба.

От имени Российского птицеводческого союза, от себя лично я поздравляю руководство Научно-производственного предприятия «АВИВАК», его слаженный коллектив с Юбилеем и не сомневаюсь в том, что НПП «АВИВАК» выполнит свою благородную миссию для птицеводческих предприятий России.

Владимир Иванович Фисинин
Первый вице-президент Российской сельскохозяйственной академии,
Президент Российского птицеводческого союза

Состояние и перспективы развития отрасли птицеводства

Бобылева Г.А., к.э.н. – генеральный директор Росптицесоюза

В решении задач, стоящих перед отраслью по обеспечению прироста производства птицеводческой продукции, по достижению параметров, определенных Доктриной продовольственной безопасности, роль ветеринарной службы возрастает как никогда ранее. Это обусловлено, в первую очередь, процессом дальнейшего укрупнения птицеводческих предприятий и высокими темпами наращивания объемов производства.

Учитывая технологические особенности производства, потребительские свойства и доступность продукции для основной массы населения, а также значительно низкий уровень потребительских цен по сравнению с другими видами животноводческой продукции, птицеводство стало одним из основных источников формирования сектора мяса и мясопродуктов продовольственного рынка: доля мяса птицы в общих мясных ресурсах составляет около 40% в 2010 году против 18% в 1990 году.

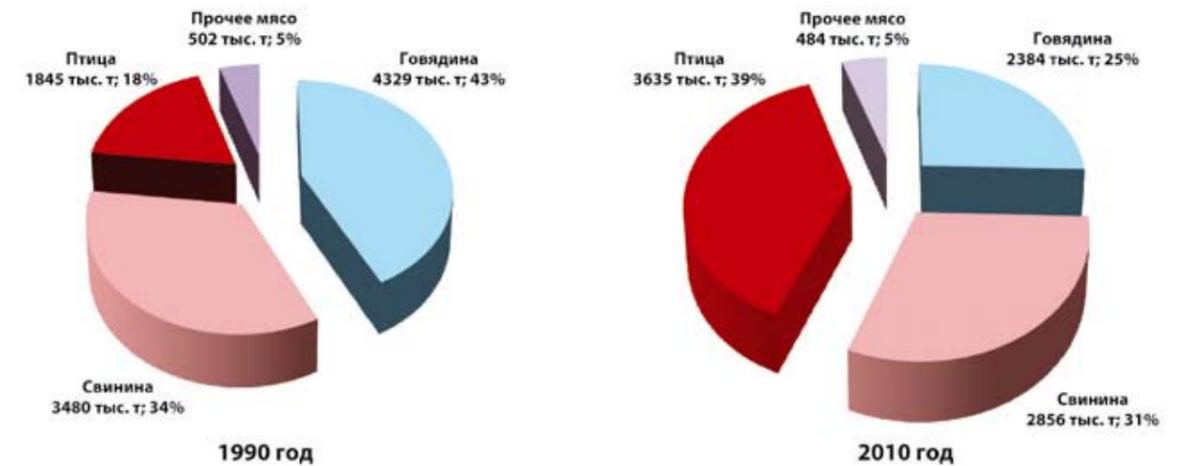


Рис. 1. Структура мясного рынка России (с учетом импорта)

С момента стабилизации (1998 г.) среднегодовой прирост мяса птицы составил 9,1%, общий прирост мяса птицы – более 1900 тыс. тонн, яиц – 7,2 млрд шт.

За два года реализации Государственной программы (2008–2009) среднегодовой прирост составил 16%, что позволило обеспечить дополнительный объем производства мяса птицы 615 тыс. тонн, яиц 1,5 млрд шт.

Уровень объема производства мяса птицы 1990 года превышен еще в 2007 году.

В соответствии с принятой Государственной программой развития сельского хозяйства до 2012 года производство мяса птицы будет увеличено к уровню 2009 года на 715 тыс. тонн и доведено до 3255 тыс. тонн, что позволит обеспечить на душу населения 21,8 кг мяса птицы отечественного производства и осуществить практически полное импортозамещение. Производство яиц в 2012 году составит 47,7 млрд штук, увеличение к 2009 году составит 8 млрд шт.

Нельзя не отметить, что развитие комплексной интегрированной системы, обеспечивающей все процессы от воспроизводства птицы до производства готовой продукции, было определено Постановлением Бюро ЦК КПСС и Совета Министров РСФСР от 5 апреля 1965 года. В текущем году исполняется 45 лет с момента принятия этого важнейшего решения.

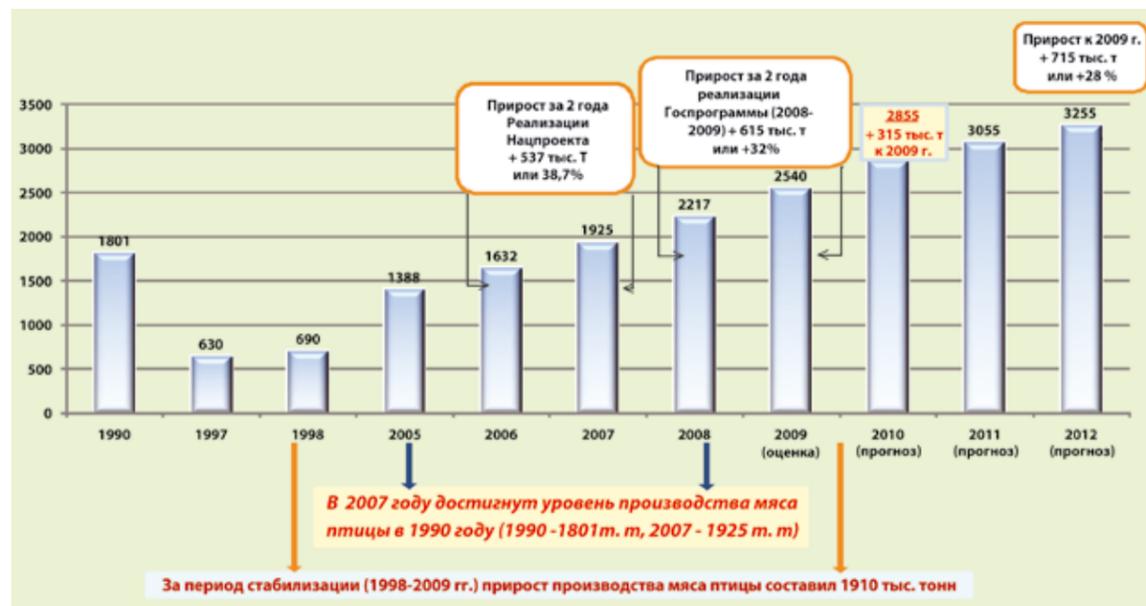


Рис. 2. Отечественное производство мяса птицы (тыс. тонн убойной массы)

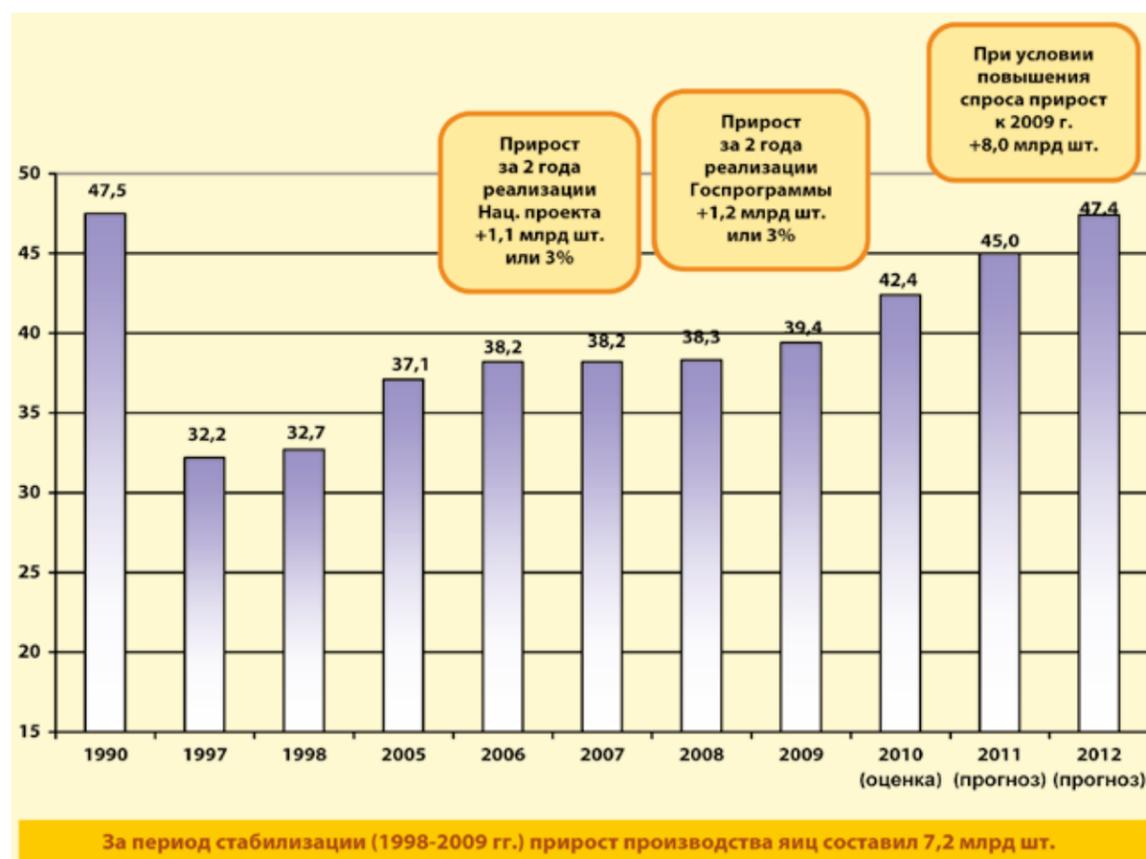


Рис. 3. Отечественное производство яиц (млрд штук)



Повышение экономической эффективности, улучшение финансовых показателей птицеводческих предприятий на всем протяжении развития птицеводства самым тесным образом было связано с ветеринарным обслуживанием.

Для успешного ведения птицеводства были разработаны новые средства диагностики, а также препараты для профилактики малоизученных в России инфекционных болезней.

Все это позволило, особенно в период стабилизации отрасли, достичь значительного улучшения качества отечественной продукции птицеводства, тем самым, повышая его конкурентоспособность.

Успешная реализация возрастающих объемов птицеводческой продукции невозможна без обеспечения ветеринарно-санитарного и эпизоотического благополучия птицеводческих хозяйств, оценкой которого являются не только высокие показатели продуктивности и сохранности птицы, но и гарантированное качество и безопасность, высокая медико-биологическая ценность, обеспечивающие доверие покупателей.

Именно об этом говорилось председателем Правительства Российской Федерации Путиным Владимиром Владимировичем на совещании, посвященном вопросам развития рынка мяса птицы, состоявшемся в ходе рабочей поездки по Ленинградской области 14 января т. г.: «...на рынок должна поступать безопасная для человека, качественная и, что немаловажно, доступная по цене продукция».

Тогда же, Премьер-министром была поставлена главная задача перед российскими птицеводами на ближайшую перспективу – увеличить производство мяса птицы, чтобы через три года осуществить полное импортозамещение.

В развитие этого заявления 03 февраля 2010 года Председателем Правительства Российской Федерации В.В. Путиным было дано поручение Минсельхозу России (№ ВП–П11–561) разработать с участием отраслевых союзов и научно-исследовательских институтов Программу «Развитие птицеводства в Российской Федерации на 2010–2012 годы и на период до 2018–2020 годов».

Необходимость решения вопроса дальнейшего развития птицеводства в рамках программы, комплексно решая накопившиеся проблемы – это назревшая необходимость. Более 10-ти лет птицеводство стабильно и с хорошими темпами наращивало объемы производства мяса птицы, яиц и продукции их переработки. Однако, отрасли и подотрасли, обеспечивающие процесс производства и реализации птицеводческой продукции существенно отстают в своем развитии. Это касается, прежде всего состояния:

– племенного дела в России

Отечественное бройлерное птицеводство сегодня испытывает дефицит в племенных ресурсах: при сегодняшних объемах производства бройлерного мяса ежегодно ввозится около 300 млн импортного инкубационного яйца и 62 млн импортных гибридных суточных цыплят.

С ввозимой племенной продукцией в Россию были завезены возбудители таких инфекционных болезней как инфекционная бурсальная болезнь (ИББ), инфекционная анемия цыплят (ИАЦ), пневмовирусная инфекция, реовирусный теносиновит (РВТ), инфекционный энцефаломиелит птиц (ИЭП), варианты штаммы вируса инфекционного бронхита кур (ИБК). До 1990 года в промышленном птицеводстве было 5 инфекционных заболеваний в настоящее время – 13.

Поступающий молодняк из-за рубежа имеет разнородный материнский иммунитет, что создает проблемы с вакцинацией поступающей птицы. Имеют место случаи массового отхода среди ввезенных цыплят с признаками болезней неизвестной этиологии.

Защита от проникновения возбудителей заразных болезней и предупреждение их распространения обеспечивается проведением комплекса организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий, специфической профилактикой и диагностикой инфекционных болезней. Необходимость неукоснительного соблюдения режима предприятия

закрытого типа в последние годы приобрела особую остроту в связи с ситуацией по гриппу птиц, основой борьбы с которыми в промышленном птицеводстве являются ветеринарно-санитарные мероприятия.

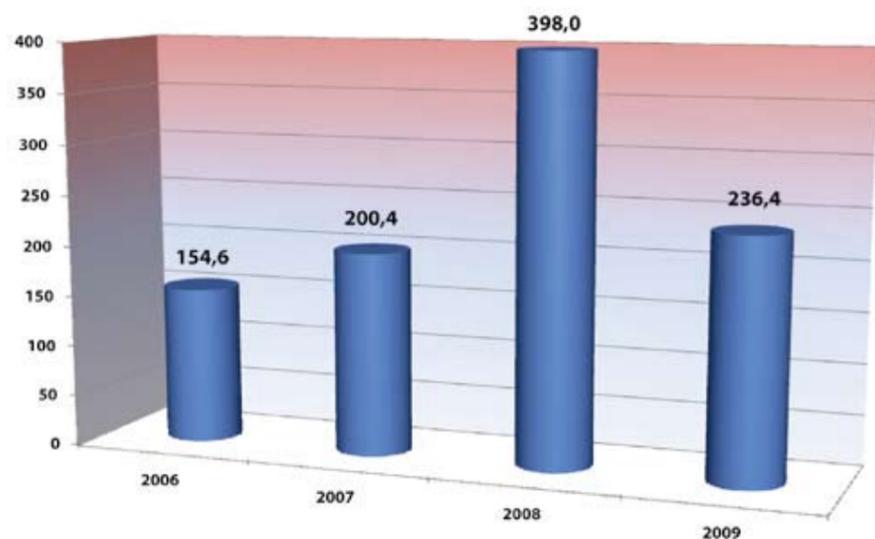


Рис. 4. Ввоз инкубационных яиц (млн штук)

В этой связи предупреждение возникновения заноса инфекционных заболеваний, в первую очередь необходимо начинать с постепенного сокращения и дальнейшего прекращения завоза гибридного инкубационного яйца.

– кормовая база

Профилактика незаразных болезней основана на соблюдении технологии производства, параметров микроклимата, сбалансированном кормлении, качестве кормов.

Несмотря на то, что в себестоимости птицеводческой продукции стоимость кормов составляет более 70%, вопрос качества кормов остается нерешенным.

Для обеспечения качества вырабатываемых комбикормов для птицы необходимо использовать 65% зерновых, из них 36% пшеницы, 23% кукурузы, 6% ячменя. Однако валовой сбор кукурузы в России удовлетворяет потребности в ней только отрасли птицеводства менее, чем на 90%, а в структуре зерновых и зернобобовых производство кукурузы на зерно составляет всего лишь от 3 до 5%.

Кроме того, для удовлетворения потребности отрасли птицеводства в сбалансированных кормах требуется более 16% соевого шрота. Однако, сегодня, исходя из структуры посевных площадей, и, соответственно, наличия сырья, удовлетворение потребности отрасли в соевом шроте составляет около 50%, включая произведенный из бобов завозимых по импорту.

Важное место в производстве полнорационных комбикормов занимают премиксы, в состав которых входят витаминные препараты, соли микроэлементов, аминокислоты, ферменты, пробиотики и другие биологически активные вещества.

За годы перестройки все промышленные предприятия по производству витаминных препаратов и аминокислот, за исключением завода по производству метионина, были закрыты и перепрофилированы. Поэтому в настоящее время все кормовые формы витаминов, холинхлорид, каратиноиды, антиоксиданты, аминокислоты (за исключением доли отечественного метионина) и др. поставляются в Россию из-за рубежа.

Активный процесс вертикальной интеграции в отрасли частично решал вышеперечисленные проблемы: строились собственные комбикормовые цеха и заводы, присоединялись земли с целью обеспечения своих потребностей в более качественном сырье. Однако, одной из основных проблем остается дефицит белка и незаменимых аминокислот.

Остаются большой проблемой инфекционные болезни птицы, от чего в прошлом году пало 2,1 млн голов птицы, в результате получен ущерб в размере 60,7 млн рублей.

Из анализа ветеринарной отчетности следует, что большой проблемой остаются инфекционные болезни птицы. На первом месте стоит колибактериоз, а затем микоплазмоз, сальмонеллез, пастереллез.

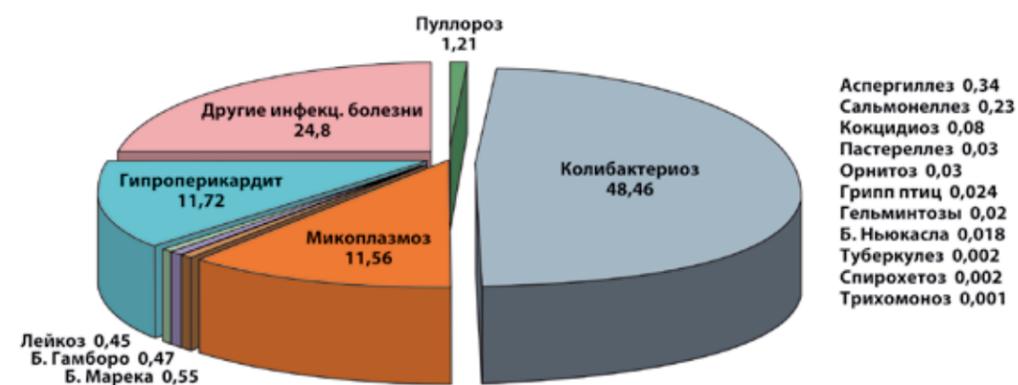


Рис. 5. Удельный вес инфекционных болезней по птице за 2009 год (%)

На эпизоотическую ситуацию в ряде хозяйств в значительной степени влияет низкая санитарная культура производства, высокая концентрация птиц разного возраста на площадке и не соответствующие современным требованиям технологии производства. Во многом, это проблемы технического плана, такие как качество кормов, утилизация помета, воздухообмен. Только при соблюдении всех норм можно добиться стабильной эпизоотической ситуации на предприятии.

Наиболее опасными болезнями для птиц являются ньюкаслская болезнь и грипп, так как имеют высокую контагиозность и при возникновении наносят значительный экономический ущерб.

Одним из важнейших гарантов безопасности птицеводческой продукции является внедрение систем качества и безопасности, соответствующих требованиям международных стандартов ХАССП и ИСО.

Однако, системы ХАССП контролируют в основном только химические, физические и биологические опасности, а не качество продукции в целом.

Поэтому сегодня на предприятиях происходит интегрирование двух систем, что позволяет охватывать весь производственный цикл – от закупок сырья до реализации готовой продукции.

На решение всего комплекса сложившихся проблем отрасли птицеводства с участием государства и нацелен проект Программы «Развитие птицеводства в Российской Федерации на 2010–2012 годы и на период до 2018–2020 годов».

Стратегической целью Программы является достижение к 2020 году высокого уровня экономического и социального развития птицеводческой отрасли, обеспечение населения страны качественной продукцией в полном объеме с учетом перспектив экспорта, для чего предусматривается увеличение производства:



- **мяса птицы** до 4,5 млн тонн, что составит на душу населения – 32 кг, прирост за 10 лет составит 1665 тыс. тонн или практически 60%;
- **яиц** до 50 млрд шт., что составит на душу населения 352 шт., прирост за 10 лет составит 63 млрд шт. или 22%.

Таблица 1. Ожидаемые результаты реализации Программы «Развитие птицеводства в Российской Федерации на 2010–2012 годы и на период до 2018–2020 годов»

1	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2018 г.	2020 г.	2020 г. к 2010 г.	
						%	+/-
1	2	3	4	5	6	7	8
Производство мяса птицы, тыс. тонн	2855	3055	3255	4300	4500	158,7	+1665
Производство мяса птицы в расчете на душу населения, кг	20,0	22,0	23,0	30,0	32,0	160	+12
Производство яиц, млрд штук	41	42	43	48	50	122,0	+9
Производство яиц в расчете на душу населения, штук	289	296	303	338	352	122,0	+63

Основными приоритетными направлениями Программы являются:

- **технологическая модернизация отрасли**, которая включает строительство и реконструкцию птицеводческих предприятий по объектам, развитие необходимой технической и технологической оснащённости, строительство предприятий по переработке яйца, создание современной птицеперерабатывающей базы и развитие логистической инфраструктуры;
- **развитие племенной базы** предусматривает создание селекционно-генетических центров птицеводства и репродукторных хозяйств, разведение высокопродуктивных и технологичных пород и кроссов птицы;
- **разработка и производство на отечественных биопредприятиях вакцинных и диагностических препаратов** против анемии, микоплазмоза птиц, в т.ч. поливалентных вакцин:
 - апробация и внедрение средств диагностики и профилактики, малоизученных в нашей стране болезней, таких как инфекционная анемия, вирусный артрит, орнитобактериальная, пневмовирусная и аденовирусная инфекция;
 - разработка и внедрение более эффективных методов санации птицеводческих помещений, безопасных методов массовых обработок биологически активными веществами;
 - расширение исследований по диагностике и определению специфической профилактики инфекционного бронхита кур (вариантные штаммы), синдрома опухшей головы, инфекционной анемии, синдрома вирусного гидроперикардита.
- **таможенно-тарифное регулирование** посредством применения таможенных тарифов, квот и мер нетарифного регулирования, снижения таможенных пошлин на сырье, белковые корма и птицеводческое оборудование, не имеющее аналогов в России;
- **развитие кормовой базы** предусматривает строительство современных комбикормовых заводов и реконструкцию функционирующих, увеличение производства белковых кормов растительного происхождения;



- **меры организационно-экономического характера:** создание условий для устойчивого функционирования птицеводческих предприятий, совершенствование инфраструктуры рынка птицеводческой продукции, развитие инновационных направлений в птицеводстве.

Все это требует формирования комплексного подхода в реализации скоординированных мер и **предусматривает решение следующих задач:**

- обеспечение строительства новых, реконструкция и модернизации действующих производственных объектов;
- развитие системы отечественного племенного птицеводства;
- создание селекционно-генетической базы, системы репродукторов 1 и 2 порядков с передовым научно-техническим потенциалом;
- обеспечение и развитие научно-технического потенциала;
- расширение рынка птицеводческой продукции на основе повышения качества и расширения ассортимента выпускаемой продукции;
- разработка и внедрение технических регламентов, повышающих качество птицеводческой продукции;
- создание условий для формирования внутреннего рынка птицеводческой продукции и его эффективной функциональной инфраструктуры;
- изменение структуры развития производства зерна и зернобобовых с целью полного удовлетворения птицеводческих предприятий в сбалансированных кормах;
- развитие системы информационного обеспечения отрасли;
- создание новых направлений деятельности по видам птицы и в организации различных моделей и форм хозяйствования;
- организация рекламных мероприятий, пропагандирующих качество и полезные свойства отечественной птицеводческой продукции.

Нанотехнологии – путь к созданию новых вакцин для птицеводства

Придыбайло Н. Д., профессор – научный консультант НПП «АВИВАК»

В промышленном птицеводстве иммунопрофилактика является одним из основных методов борьбы с инфекционными болезнями птиц. Применение с этой целью живых и инактивированных вакцин приводит, как правило, к стимуляции не только специфических, но и неспецифических факторов и механизмов иммунитета, обеспечивая противоэпизоотическое благополучие птицеводческих хозяйств.

Основные достижения в разработке вакцин для птиц пришлись на 50–90-е годы прошлого столетия, когда были получены специфические биопрепараты против большинства известных возбудителей болезней. Необходимо отметить, что на сегодняшний день эффективность ряда уже известных вакцин становится недостаточной из-за появления новых эпизоотических штаммов возбудителей болезней, быстрого «старения» при неудовлетворительном подборе защитных сред для лиофилизации или инактиватора антигена, что приводит к сокращению сроков их хранения, возможна повышенная реактогенность у птицы, ввиду недостаточной очистки от балластных веществ.

Ведущие биопредприятия и фирмы по производству вакцин постоянно их совершенствуют, повышая прежде всего качество по основным показателям: иммуногенности и безопасности для птицы. Иммунитет, создаваемый отдельными вакцинами, может быть недостаточно

напряженный и длительный, как и нет абсолютно безопасных вакцин. Поэтому дальнейший прогресс в вакцинологии основывается на научных достижениях, одними из которых являются нанотехнологии.

Нанотехнология – это наука об очень маленьких объектах, которая включает в себя создание и использование материалов, устройств и технических систем, функционирование которых определяется наноструктурой, то есть упорядоченными фрагментами размером от 1 до 100 нанометров. Благодаря достижениям современной физики, химии и биологии, на основе которых созданы нанотехнологии, возможно манипулирование молекулами, группами атомов и отдельными атомами. Эта наука из фантастики постепенно превращается в реальность.

Получившие в практике применение инженерно-спроектированные микроскопические наночастицы подразделяются на следующие группы: полимерные, керамические, металлические, углеродные (фуллерены и нанотрубки), липосомы, суспензии и др.

Экспериментально установлено, что манипуляции с частицами в масштабах от 1 до 100 нанометров (нм), получивших название наноматериалов – наночастицы, нанокapsулы, нанотрубки, наносферы, фуллерены, дендримеры, липосомы, схематически представленные на рис. 1, позволяет присоединить к ним лиганды направленного действия (антигены или антители), проводить «точечную» доставку антигена в иммунокомпетентные органы и антигенпредставляющие клетки, уменьшить его дозу и обеспечить пролонгированное действие.



Рис. 1. Наноносители лекарственных средств

В настоящее время сформулированы основные требования, которым должны удовлетворять наноматериалы в биотехнологии, а именно:

- отсутствие токсичности, биосовместимость и способность к биodeградации;
- диаметр частиц не более 100 нм;
- физическая стабильность в крови (отсутствие агрегации);
- возможность переноса малых молекул, пептидов, белков и нуклеиновых кислот;
- невысокая стоимость производства.

Наноматериалы обладают комплексом уникальных физических и химических свойств, которые часто радикально отличаются от свойств веществ в обычном (макродисперсном) состоянии: высокой адсорбционной емкостью, химической реакционной и каталитической активностью, способностью к аккумуляции. Уникальные свойства наночастиц позволяют надеяться, что они займут ведущее место в современной биотехнологии приготовления вакцин для птицеводства.

Прежде чем определить место нанотехнологий в производстве вакцин для птицеводства, рассмотрим кратко технологию их изготовления, которая заключается в следующем:

- подбор кандидатов в вакцинные штаммы, адаптация и аттенуация их на культурах клеток, куриных и других видах эмбрионов и птице;
- получение протективных антигенов в виде цельных вирусов, бактерий простейших, их субъединичных фракций или синтетически сконструированных фрагментов, выделение ДНК, РНК или генов, в том числе полученных в рекомбинантном виде, и их переносчиков (плазмиды, липосомы и др.);

- выбор состава защитных сред, обеспечивающих лиофилизацию и последующее хранение живых клеток, адъюванта и инактиватора;
- получение готового биопрепарата и проведение необходимых контролей.

Применение нанотехнологий может найти место на любом из представленных нами этапов изготовления вакцин для птицеводства. На первом этапе это добавление в культуральную среду наноматериалов для лучшей солиubilизации, с целью повышения ростовых свойств клеточных культур, пролонгированного действия вакцинных штаммов и увеличения их инфекционной активности, деконтаминации инфекционных агентов с помощью включенных в липосомы антибиотиков. На последующих двух этапах нанотехнологии позволяют применить препараты, способные избирательно связываться с молекулами ДНК, РНК, определенными генами, субъединичными и искусственными антигенами. Так, углеродные фуллерены (1 нм сфера из атомов углерода) могут быть использованы в качестве несущего элемента, что обусловлено одной из уникальных особенностей его молекулы проявлять мощные адгезивные свойства и способствовать образованию кластеров. Большая поверхность позволяет присоединять к фуллерену различные антигены, а также дезактивировать свободные радикалы, которые являются одной из главных причин, вызывающих преждевременное снижение инфекционной активности лиофилизированных вакцин.

К другим известным нанопереносчикам относятся полимерные соединения – поливинилпирролидон, полибутилцианоакрилат, хитозан; фосфолипидные липосомы, цитокины и др. Большинство из названных здесь наноматериалов обладает выраженными адъювантными свойствами и их введение в состав вакцин обеспечивает повышенный защитный эффект, в том числе и с помощью увеличения титра антител.

Автором этого обзора накоплен опыт использования фосфолипидных липосом, которые применяются для введения вакцин и лекарственных средств. Липосомы – искусственные липидные оболочки, состоящие из одного или более концентрических липидных слоев, благодаря чему они имеют сходство с составом и строением клеточных мембран организма. Чаще всего для их построения используют фосфатидилхолин (ФХ), который получают из желтка яиц или фосфатидного концентрата сои. Способ взаимодействия липосом в самом простом варианте заключается в адсорбции липосом на поверхности клеточной мембраны. Но этот процесс может пойти и дальше, и клетка может с клеточной мембраной схематически представлен на рис. 2.

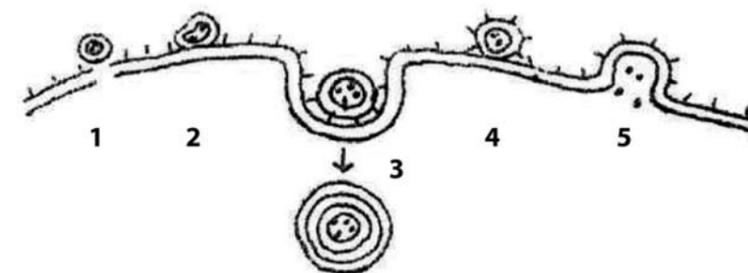


Рис. 2. Формы взаимодействия липосом с мембраной клетки:

1 – липосома может увеличивать проницаемость мембраны, вызывая образование дополнительных каналов; 2 – может прикрепляться к мембране и адсорбироваться; 3 – может поглотиться клеткой, в этом случае вещество, принесенное липосомой, проникает непосредственно в клетку; 4 – иногда клеточная мембрана и липосомы обмениваются липидами; 5 – клеточная и липосомальная мембраны могут сливаться



В Российском НИИ гематологии и трансфузиологии РАМН из фосфатидного концентрата сои и L-токоферола получена липосомальная суспензия «Липоферол» (патент РФ № 2071765). Размер таких липосом составляет 10–50 нм. Нами получен патент РФ № 2138290 на вирусвакцину сухую липосомальную из штамма «ВНИИБП» против инфекционного ларинготрахеита птиц (ИЛТ), которая зарегистрирована в РФ и применяется в производстве. Перспективу также представляет защитная среда на основе суспензии «Липоферол» с целью изготовления вирусвакцин в птицеводстве (патент РФ № 2306949). На ее основе в эксперименте с положительным результатом испытана ассоциированная липосомальная вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «Ла Сота» и ИЛТ из штамма «ВНИИБП».

Очень важным моментом может стать применение нанотехнологий для дезинфекции используемого оборудования при производстве вакцин, особенно в воздуховодах, трубопроводах и канализационных системах. Кандидатом для этих целей называются ионы серебра.

С учетом того, что вещества в ультрадисперсном состоянии потенциально могут оказывать отрицательное действие на живые организмы, их применение регламентировано нормативным документом – «О надзоре за продукцией, полученной с использованием нанотехнологий и содержащей наноматериалы» (Постановление Главного государственного санитарного врача РФ № 54 от 23.07.07).

Вакцинация – основа эпизоотического благополучия птицеводов

Хохлачев О. Ф.; Калинин А. Н.; Гаврилов С. Н.; Серова Н. Ю. – НПП «АВИВАК»

Введение

Несмотря на впечатляющие успехи современной ветеринарной науки и биотехнологии, по-прежнему остается актуальной проблема борьбы с инфекционными болезнями в промышленном птицеводстве. Появление и широкое распространение новых возбудителей, течение инфекционных болезней птиц в субклинической, хронической и/или ассоциированной форме значительно затрудняют постановку своевременного и точного диагноза и снижают результативность программ профилактики и борьбы с болезнями птиц.

В задачу наших исследований входило изучение эффективности различных применяемых схем вакцинации птицепоголовья с использованием живых и инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного бронхита кур (ИБК), реовирусного теносинита (РЕО), синдрома снижения яйценоскости кур (ССЯ–76) и пневмовирусной инфекции птиц (ПВИ).

Материалы и методы

Объектом изучения были племенные и промышленные птицеводства яичного и мясного направления из различных регионов России: Поволжья, Краснодарского края, Урала, Сибири, Центральной зоны, Республики Карелия, Московской и Ленинградской области. Специфическая профилактика инфекционных болезней птиц в этих хозяйствах проводится с использованием вакцин разного производства по схемам, рекомендуемым изготовителями биопрепаратов.

Эпизоотологическое обследование птицеводств с целью анализа ветеринарного благополучия и оценки напряженности поствакцинального иммунитета у привитых птиц проводили по общепринятой методике.



В качестве материала для лабораторных исследований использовали «парные» пробы сыворотки крови цыплят и кур разного возраста, куриные яйца, полученные в различные периоды продуктивности, а также яичные фолликулы от павших и вынужденно убитых несушек. Из яичных желтков и фолликулов готовили экстракты по предложенному нами ранее методу.

Наличие антител к вирусу ИБК, РЕО, ПВИ и динамику сероконверсии определяли в непрямо́м твердофазном ИФА, используя тест-системы и программное обеспечение «АВИВАК» и «BioChek».

Исследование сыворотки крови птиц, экстрактов желтка куриных яиц и желточных фолликулов на наличие антиагглютинирующих антител к вирусу НБ и ССЯ–76 проводили в РТГА с инактивированными антигенами вируса НБ, штамм «Ла–Сота» и ССЯ–76, штамм «В 8/78» в рабочем разведении 4 ГАЕ/0,025 мл.

Исследуемый материал проверяли также на наличие антител к *Mycoplasma gallisepticum* (МГ), *Mycoplasma synoviae* (МС) и *Ornithobacterium rhinotracheale* (ОРТ). При этом для серологических исследований использовали тест-системы «ИФА–АВИВАК» и «ELISA–BioChek».

Результаты исследований

Результаты эпизоотологического обследования и диагностических исследований материала из почти 40 птицеводств показали, в основном, их стабильное эпизоотическое благополучие по болезни Марека (БМ), ньюкаслской болезни (НБ), инфекционной бурсальной болезни (ИББ), синдрому снижения яйценоскости кур (ССЯ–76), инфекционному бронхиту кур (ИБК, серотип Массачусетс), оспе птиц. Ситуация по реовирусному теносиниту (РЕО), инфекционному энцефаломиелиту (ИЭМ), инфекционному ларинготрахеиту (ИЛТ) различалась в зависимости от применяемых схем вакцинации птицепоголовья. Неоднозначной была эпизоотическая ситуация по пневмовирусной инфекции (ПВИ), орнитобактериозу (ОРТ), микоплазмозу, особенно микоплазма-синовия-инфекции и инфекционному бронхиту кур, вызванному, предположительно, вариантными штаммами вируса ИБК.

Анализ применяемых программ (схем) вакцинации птицепоголовья показал их значительные различия в зависимости от кросса кур, источников комплектования, стационарной эпизоотической ситуации по инфекционным болезням птиц в каждом отдельном хозяйстве и регионе. Необходимо отметить, что сравнительно более стабильной была эпизоотическая ситуация в птицеводствах, входящих в научно-производственные системы ведущих отечественных племптицеводов и племптицеводов: «Свердловский», «Птичное», «Лабинский», «Плептица–Можайское», «Смена» и других. В этих хозяйствах количество профилактируемых инфекционных болезней птиц и общее число вакцинаций птицепоголовья были меньшими в сравнении с аналогичными показателями птицеводств, завозящих племенную продукцию от зарубежных поставщиков.

В подтверждении этого приводим примеры программ вакцинации птицепоголовья, позволяющих поддерживать стабильное эпизоотическое благополучие хозяйств по основным профилактируемым вирусным болезням птиц.

Таблица 1. Программа вакцинации птицы родительского и/или промышленного стада в хозяйстве яичного направления

Возраст птиц, (дн.)	Профилактируемая болезнь	Вакцина	Метод вакцинации
1	2	3	4
1	БМ	«Риспенс»	П/к или в/м
4–5	ИБК	«Н–120»	Спрей
18–19*	НБ	«Ла–Сота»	Спрей



1	2	3	4
21–23*	ИББ	«WF-2512»	Выпойка
29–30*	ИББ	«WF-2512»	Выпойка
38–40*	НБ	«Ла-Сота»	Спрей
47–50	ИБК	«Н-120»	Спрей
75	ИБК	«Н-120»	Спрей
85	ИЭМ	«С 1143»	Выпойка
110–120	ИБК, ИББ, НБ, ССЯ-76, Рео	ИБК + ИББ + НБ + ССЯ-76 + Рео инактивированная	П/к или в/м

* Сроки вакцинации корректирует ветврач по результатам серологических исследований.

Таблица 2. Программа вакцинации птицы родительского стада в хозяйстве яичного направления

Возраст птиц, (дн.)	Профилактируемая болезнь	Вакцина	Метод вакцинации
1	2	3	4
1	БМ	«Риспенс»	П/к или в/м
	ИБК	«Н-120»	Спрей
5	Рео	«S 1133»	П/к
7*	ИББ	«БГ»	Выпойка
12*	НБ	«Ла-Сота»	И/назально
17	ИББ	«БГ»	Выпойка
21	ИБК	«Н-120»	Выпойка
26–28*	НБ	«Ла-Сота»	Выпойка
40–42	НБ, Рео	«НБ + Рео» инактивированная	В/м
50	ИБК	«Н-120»	Выпойка
55	ИЭМ	«С 1143»	Выпойка
65	ИЛТ	«ВНИИБП»	Окулярно
	Оспа	«Рох»	В перепонку крыла
75	ИБК	«Н-120»	Выпойка
90–95	ИБК, ИББ, НБ, ССЯ-76, Рео	ИБК + ИББ + НБ + ССЯ-76 + Рео инактивированная	В/м

* Сроки вакцинации корректирует ветврач по результатам серологических реакций.

Таблица 3. Программа вакцинации птицы родительского стада в хозяйстве мясного направления

Возраст птиц, (дн.)	Профилактируемая болезнь	Вакцина	Метод вакцинации
1	2	3	4
1	БМ	«Риспенс»	П/к или в/м
1	ИБК, НБ	«Ma5 + Clon30»	Спрей
8–10*	НБ	«Clon30»	Окулярно
	Рео	«S 1133»	П/к
12*	ИББ	«Д 78»	Выпойка
17*	ИБК	«МА5»	Выпойка
20–22	ИББ	«Д 78»	Выпойка



1	2	3	4
33–35	ИБК, НБ	«Ma5 + Clon30»	И/назально
	Рео	«S 1133»	П/к
45	ИЛТ	«ИЛТ»	Окулярно
	РМ	«Mg inac»	В/м
53	ВАЦ	«CAV P4»	В/м
60	ИБК, НБ	«Ma5 + Clon30»	Выпойка
67	ПВИ	«TRT»	Окулярно
75	Оспа, ИЭМ	«AE + Pox»	В перепонку крыла
84	НБ	«Clon30»	И/назально
	Рео	«Reo inac»	В/м
93	МГ	«Mg inac»	В/м
105	ССЯ-76	«EDS'76»	П/к
120–125	ИБК, НБ	«Ma5 + Clon30»	Выпойка
130	ИБК, НБ, ИББ, Рео	«IB + ND + G + Reo»	В/м
	ПВИ	«TRT inac»	В/м

* Сроки вакцинации корректирует ветврач по результатам серологических реакций.

Таблица 4. Программа вакцинации цыплят бройлеров

Возраст птиц, (дн.)	Профилактируемая болезнь	Вакцина	Метод вакцинации
1	2	3	4
1	БМ*	«ФС-126»	П/к или В/м
1	ИБК*	«Н-120»	Спрей
6–7	ИББ*	«WF-2512» или «БГ»	Выпойка
9–12	ИБК*	«Н-120»	Выпойка
14–15	НБ*	«Ла-Сота» или «БОР-74»	Выпойка
17–19	ИББ*	«WF-2512» или «БГ»	Выпойка

* Обоснованность прививки, выбор вакцины, точные сроки и метод вакцинации определяет ветврач.

Важной составной частью программы специфической профилактики является ее успешность и контроль качества проведенной вакцинации птицепоголовья.

Успех разработанных и использованных программ вакцинопрофилактики в каждом конкретном случае оценивается по целому ряду факторов, основными из которых являются: общее состояние здоровья птицы, нормативно высокие показатели сохранности и продуктивности привитого птицепоголовья, оптимально разумные затраты, пошедшие на реализацию программ, что должно обеспечивать реальную и стабильную прибыльность каждой отдельной партии птиц и всего хозяйства в целом.

Качество проведенной вакцинации птицепоголовья дополнительно оценивается путем проведения планового серологического мониторинга по контролю напряженности поствакцинального иммунитета у привитых птиц. Получаемые при этом результаты лабораторных исследований позволяют оперативно внести требуемые коррективы в программу, в т.ч. изменить сроки и метод вакцинации, дозировку вакцины, а в случае необходимости провести дополнительную вакцинацию или исключить повторные прививки или даже заменить применяемую вакцину на другую, более или менее иммуногенную и/или реактогенную.

В обследованных нами птицеводствах контроль качества проводимых вакцинаций осуществлялся как в ветеринарных лабораториях хозяйств, так и в специализированных регио-



нальных и центральных профильных лабораториях и диагностических центрах, в т.ч. ВГНКИ, ВНИИЗЖ, «АВИВАК». Полученные при этом, результаты, существенно не различались и, в основном, подтверждали высокое качество проведенной вакцинации птицы.

Вакцинация молодняка цыплят против НБ и ИБК при введении этих вакцин различными групповыми методами (крупнодисперсный спрей или выпойка) была сравнительно одинаково успешной при условии качественного выполнения метода с использованием дозатронов, и/или спрей-аппаратов с регулируемым давлением и монотрамами, позволяющими получать и контролировать заданную величину капель спрея. В отдельных случаях отмечали низкое качество иммунитета к НБ и ИБК у цыплят, привитых ассоциированной вакциной «Ma5 + Clo30», «Н-120 + Ла-Сота» в сравнении с вакцинацией моновалентными формами препаратов. Не во всех случаях была подтверждена эпизоотическая целесообразность вакцинации цыплят против ИБК в суточном возрасте.

Было также установлено, что при иммунизации цыплят против реовирусного теносинювита с использованием живой вирусвакцины метод введения вакцины был очень важен и во многом определял успех вакцинации. Так у цыплят, привитых по схеме двукратно методом подкожной инъекции, качество иммунитета было более высоким, чем у цыплят, вакцинированных двукратно методом выпойки. Последующее применение инактивированной вакцины на переводе, как правило, обеспечивало высокое качество специфической защиты птиц, предварительно привитых методом подкожной инъекции от полевой рео-инфекции. Эти данные представлены в табл. 5.

Таблица 5. Качество поствакцинального иммунитета птиц, привитых против РЕО различными методами

№ п/п	Группа птиц	Метод вакцинации	Возраст птиц на момент вакцинации, (дн.)	Возраст птиц на момент взятия крови, (дн.)	Количество проб, (шт.)	Титр антител в интервале значений						Средний титр антител	КВ, %	Напряженность иммунитета, (%)
						Min	Max	ОТ	НП	ПЛ	ВП			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Цыплята	Выпаивание (живая), однократно	8	30	19	104	3700	8	7	4		1735	31,3	21
2	Цыплята	Выпаивание (живая), двукратно	8, 26	55	19	189	5920	3	6	10		2203	33,9	53
3	Реммолодняк	Подкожно (инактивированная)	105	140	19	366	6188	1	3	13	2	4057	38,9	79
4	Цыплята	Подкожно (живая), однократно	8	30	19	389	6346	2	6	10	1	2681	41,3	58
5	Цыплята	Подкожно (живая), двукратно	8, 26	55	19	694	7008		3	8	8	4914	32,7	84
6	Реммолодняк	Подкожно (инактивированная)	105	140	19	2874	13092			12	7	7412	11,6	100



Этим, по нашему мнению, можно объяснить случаи неудовлетворительного поствакцинального иммунитета у птиц, привитых против реовирусного теносинювита методом выпойки, вне зависимости от кратности вакцинаций.

При оценке эпизоотической ситуации птицеводств было, также, установлено, что в том случае, где проводилась вакцинация поголовья против пневмовирусной инфекции (ПВИ), даже с использованием только инактивированной вакцины, общее состояние здоровья птицы и продуктивность были заметно лучше. У цыплят не отмечались респираторные признаки, опухание периорбитальных и/или подглазничных синусов, искривление шеи. У кур в меньшей степени наблюдали респираторные проявления, признаки опухания головы, снижение яйценоскости. У птиц, привитых против ПВИ, отмечали менее выраженную контаминацию возбудителями микоплазма, колибактериоза, орнитобактериоза.

Ниже приведены результаты исследования сыворотки крови кур, привитых против ПВИ инактивированной вакциной в возрасте 105 дней (таблица 6) и кур непривитых, но переболевших «полевой» пневмовирусной инфекцией (таблица 7). При этом отмечен различный уровень иммунной реакции на орнитобактериоз, в большей степени выраженный, в случае «полевой» ПВИ-инфекции. Здесь необходимо отметить, что переболевание кур-несушек ринотрахеитом сопровождалось снижением яичной продуктивности птиц с 94% до 70% в возрасте 195–220 дней. После переболевания яйценоскость кур восстановилась почти полностью.

Таблица 6. Результаты исследования сыворотки крови птиц на наличие антител к пневмовирусу (ПВИ) и орнитобактерии (ОРТ)

№ п/п	Возраст птиц, (дн.)	Количество проб, (шт.)	Титр антител в интервале значений						КВ, (%)	Количество иммунных птиц, (%)
			Отрицат.	Сомнит.	Положит.	Min	Max	Средний		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ПВИ										
1	80	10	7	2	1	424	1656	946	45	10
2	120	10	7	1	2	248	2027	988	60	20
3	135	11			11	1825	10934	4603	61	100
4	140	10		1	9	1543	22841	8022	77	90
5	175	10			10	3510	19888	10531	55	100
6	240	9			9	14951	25762	21189	16	100
7	280	10			10	9037	24676	20213	25	100
8	310	10			10	21169	29351	24424	10	100
9	355	10			10	2162	24050	12590	67	100
10	440	10			10	2136	10199	5570	46	100
ОРТ										
11	80	10	2	4	4	109	3749	1519	76	40
12	120	10	3	6	1	153	2936	864	93	10
13	135	10	2	6	2	144	1671	819	62	20
14	140	10	4	5	1	234	1537	652	66	10
15	175	10	1	4	4	200	21616	1292	57	40
16	240	9	2	5	2	398	3488	1340	86	22
17	280	10	2	6	2	297	2344	1507	70	20
18	310	10	1	6	3	415	3547	1719	69	30
19	355	10	3	4	3	68	4298	2017	92	30
20	440	10	1	4	5	309	5304	2862	77	50

Примечание: Птица привита против ПВИ инактивированной вакциной «TRT inas» в возрасте 105 дней.



При оценке эпизоотической ситуации хозяйств по инфекционным болезням птиц, в контроле качества поствакцинального иммунитета у привитого птицепоголовья и особенно при определении причин снижения яичной продуктивности кур были успешно использованы для диагностических исследований не только «парные» пробы сыворотки крови, но и яичные желтки и желточные фолликулы, взятые от несушек в различные периоды яйцекладки. Полученные при этом результаты лабораторных исследований показали высокую результативность и достоверность метода и далеко не во всех случаях подтверждали инфекционную причину спадов яйценоскости и ухудшение качества скорлупы яйца.

Анализ эффективности вакцинопрофилактики синдрома снижения яйценоскости-76 показал, что одной вакцинации реммолодняка кур на переводе инактивированной эмульсионной вакциной отечественного производства достаточно для обеспечения специфической защиты несушек от «полевой» ССЯ-76-инфекции. Использование импортных вакцин в отдельных случаях не создает напряженного и продолжительного иммунитета, что не исключает проявления ССЯ-76-инфекции в случае действия на птиц стрессовых факторов.

При этом необходимо отметить различия в результатах контроля качества поствакцинального иммунитета у привитых птиц при использовании разных методов серологических исследований: ИФА и РТГА. При ИФА-исследовании уровень антител и качество иммунитета в целом удовлетворительные, однако, параллельные исследования этих же проб сыворотки в РТГА выявляют иммунитет низкого качества. Это необходимо учитывать при оценке эпизоотической ситуации и контроле поствакцинального иммунитета у птиц, привитых против ССЯ-76. Использование РТГА для этих целей более предпочтительно, т.к метод отличается простотой постановки и учета результатов, экономической совокупностью при масштабировании исследований, поскольку не требует дорогостоящего оборудования и материалов, оперативностью, т.к. выполнен в условиях лаборатории птицеводства.

Таблица 7. Результаты исследования сыворотки крови птиц на наличие антител к пневмовирусу (ПВИ) и орнитобактерии (ОРТ)

№ п/п	Возраст птиц, (дн.)	Количество проб, (шт.)	Титр антител в интервале значений						КВ, (%)	Количество иммунных птиц, (%)
			Отрицат.	Сомнит.	Положит.	Min	Max	Средний		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ПВИ										
1	140	10		3	7	1500	10380	6886	34	70
2	210	10			10	10652	19278	14756	21	100
3	250	10			10	8520	21106	15111	27	100
4	280	10			10	8103	20812	15796	28	100
5	310	10			8	8662	19414	13159	27	100
6	350	10			10	4093	17924	9749	46	100
ОРТ										
7	140	10			10	2994	10810	5150	44	100
8	210	10			10	2400	12017	7046	43	100
9	250	10		1	9	1324	12356	6996	50	90
10	280	10		3	7	915	5792	3001	54	70
11	310	10			10	3562	10869	7508	40	100
12	350	10		1	9	858	5129	2999	49	90

Примечание: Иммунная реакция птиц на проявление «полевой» ПВИ-инфекции.



Приводим сравнительные данные диагностических исследований по контролю качества поствакцинального иммунитета к ССЯ-76 при использовании различных методов постановки реакции: непрямой твердофазный ИФА и РТГА (таблица 8).

Таблица 8. Сравнительные результаты в РТГА и ELISA-BioChek исследования сыворотки крови кур на наличие антител к вирусу ССЯ-76

№ п/п	Титр антител			
	РТГА		ELISA-BioChek	
	Разведение	Log2	Титр	Титрогруппа
1	2	3	4	5
1	128	7	9192	7
2	32	5	9237	7
3	256	8	13806	9
4	128	7	11580	8
5	8	3	3308	4
6	16	4	4210	5
7	512	9	13467	9
8	1024	10	13765	9
9	2048	11	14680	10
10	64	6	10015	8

Как видно из приведенных данных, в случае использования метода ELISA выявлен 100%-ный иммунитет, в то время как в РТГА качество иммунитета составило 80%. Установлено также, что величина индивидуальных титров сывороточных антител, выраженная в log₂, соизмерима с таковой ELISA в титрогруппах.

Заключение

Применяемые в птицеводствах РФ программы вакцинации птицепоголовья с использованием живых и инактивированных вакцин в основном обеспечивают эпизоотическое благополучие хозяйств по болезни Марека (БМ), ньюкаслской болезни (НБ), инфекционной бурсальной болезни (ИББ), оспе птиц, синдрому снижения яйценоскости кур (ССЯ-76), инфекционному бронхиту кур (ИБК, серотип Массачусетс), реовирусному теносиновиту (РЕО), инфекционному энцефаломиелиту (ИЭМ), инфекционному ларинготрахеиту (ИЛТ). Ситуация по пневмовирусной инфекции и инфекционному бронхиту кур, вызываемому вариантными штаммами вируса ИБК требует дальнейшего изучения. Заслуживает серьезного внимания распространение в птицеводствах *Ornithobacterium rhinotracheale* и *Mycoplasma synoviae*-инфекции.

Использование тест-систем «ИФА-АВИВАК» и «BioChek» позволяет успешно проводить широкомасштабный серологический мониторинг с целью оценки эпизоотической ситуации птицеводств и контроля качества поствакцинального иммунитета у привитых птиц.



Патотипирование полевых изолятов вируса болезни Марека методом «best fit»

Дудникова Е.К.; Норкина С.Н.; Власов А.Н.; Джулардов Г.В. – НПП «АВИВАК», Институт Вирусологии им. Д.И. Ивановского РАН;

Lucy F. Lee, Richard L. Witter – USDA ARS Avian Disease and Oncology Laboratory, 3606 East Mount Hope Road, East Lansing, MI, 48823, USA

Несмотря на то, что выявление патотипа является главным критерием в изучении полевых изолятов вируса болезни Марека (далее – БМ), способы его определения до сих пор не удалось привести к единому стандарту, в связи с чем результаты, полученные в разных лабораториях, не могут быть достоверно сравнимы с результатами оригинального, разработанного и используемого Лабораторией Онкологических Болезней Птиц (ADOL, США) метода «best fit», описанного Виттером Р. и др. (2005). Наше исследование было направлено на определение воспроизводимости этого метода патотипирования полевых изолятов вируса болезни Марека и его стандартизации в РФ.

В настоящее время предложен широкий спектр критериев для идентификации различных патогенных микроорганизмов, включая вирус БМ. Однако, значимым фактором, играющим важную роль в экономическом аспекте любого заболевания, является степень вирулентности каузативного агента. Например, потери от БМ в птицеводческой промышленности всего мира ежегодно оцениваются в 1–2 млрд долларов (Morrow & Fehler, 2004). Таким образом, для успешной диагностики заболевания необходима правильная оценка степени вирулентности возбудителя. Так как вирулентность является комплексной характеристикой, выявляемой с участием «хозяина», ее определение требует воспроизведения процесса болезни в стандартных условиях.

Для создания соответствующих методов классификации вируса должны быть учтены некоторые особенности БМ. Несмотря на все попытки достичь эффективного контроля, болезнь остается широко распространенной по всему миру. Ни одна из ныне используемых вакцин не обеспечивает 100% защиты. После первичного появления в отдельных регионах БМ имеет тенденцию приобретать эпизоотический характер. При этом главной проблемой является вероятность того, что вакцинация восприимчивого поголовья способствует эволюции вируса БМ в сторону увеличения вирулентности. Таким образом, нам необходимы методы классификации, которые не только позволили бы нам исследовать существующую ситуацию, но также отследить распространение и эволюционную изменчивость вируса.

Основной задачей данного исследования являлось формирование коллекции отечественных полевых изолятов вируса болезни Марека (ВБМ) и их характеристика.

Следующая цель наших исследований заключалась в изучении текущей ситуации БМ в России. Не так давно БМ рассматривалась как существенная проблема в птицеводстве РФ. Вспышки в коммерческих хозяйствах влекли за собой большие экономические потери. Из-за экономического и политического кризисов, который длился в России более 10 лет, ветеринарная служба потеряла контроль над болезнью. Научные исследования по БМ, также как и усовершенствование мер борьбы с заболеванием практически не проводились. Однако за последние три–четыре года серьезность проблемы БМ снизилась. Это видно по сокращению вспышек, а также сглаженной форме течения заболевания и патологоанатомической картины.

До недавнего времени главным источником информации по эпизоотической ситуации по БМ оставалось патологоанатомическое исследование в момент вспышки заболевания. Было опубликовано несколько сообщений по изоляции ВБМ (Коровин, 1971, 1979, Лавров, 1975, Мазуренко, 1974, Яковлева, 1973, 1975), однако отсутствие стандартных методик не



позволило в полной мере охарактеризовать полученные изоляты. Увеличение случаев БМ могло быть связано с появлением новых, высокопатогенных штаммов, поэтому мы пытались выяснить, присутствовали ли последние на территории Российской Федерации с тем, чтобы можно было применить соответствующие меры контроля и предложить адекватную стратегию вакцинации.

Дальнейшими целями нашего исследования было подтверждение каузативности высоковирулентного вируса БМ во вспышках болезни и составление карты географической локализации очагов болезни Марека.

В течение периода 2002–2005 гг. нами было изолировано двадцать вирусов БМ 1 серотипа из двенадцати племенных и промышленных хозяйств восьми различных регионов страны.

Изоляты патотипировались с помощью «best fit» метода на вакцинированных и невакцинированных СПФ-цыплятах линии Щелково. Была проведена сравнительная оценка неопластических изменений, индуцированных полевыми изолятами, с поражениями, вызываемыми референтными штаммами JM/102, Md5 и 648A, представляющих патотип вирулентных (v), высоковирулентных (vv) и сверхвирулентных (vv+) вирусов, соответственно. Результаты наших исследований показывают, что метод патотипирования «best fit» является точным и практичным инструментом для классификации российских изолятов ВБМ по степени вирулентности.

Чувствительность СПФ-птицы линии Щелково была явно ниже, чем у кур линии «15x7 ab+», используемой в США. Однако, сравнение полученных нами результатов с данными опытов, проведенных в ADOL (Witter et al., 2005) с использованием двух коммерческих линий СПФ-птицы, показало, что восприимчивость птицы линии Щелково была такой же, как у линии SPAFAS и незначительно превосходила таковую у линии Ну–Vac ТК при заражении тремя референтными штаммами. Возможно, что разница в восприимчивости линий не так важна, как степень проявления индуцированных ВБМ поражений, которые должны быть выраженными и характерными для различных патотипов. Результаты проведенных исследований показали, что птица линии Щелково и три другие породы кур (ADOL «15x7 ab+», SPAFAS и Ну–Vac ТК) обладали достаточной восприимчивостью для проведения патотипирования (Witter et al., 2005; Witter, 1997).

Разработанная в ADOL процедура изоляции ВБМ 1-го серотипа из образцов крови: выделение, накопление, серотипирование, банкирование и очистка – была адаптирована к нашим условиям. Так, по причине труднодоступности утиных СПФ-эмбрионов, вместо фибробластов эмбрионов уток (ФЭУ) изоляцию и размножение вирусов проводили, используя фибробласты эмбрионов кур (ФЭК). Использование ФЭК во время проведения наших экспериментов могло повлечь за собой две сложности. ФЭК очень чувствительны к ВБМ 2-го и 3-го серотипов, а также к экзогенным ВЛП. Возможно, это явилось причиной частого выявления контаминации экзогенными вирусами. К тому же, более низкая чувствительность ФЭК к первичной изоляции ВБМ 1-го серотипа, в сравнении с клетками почек цыплят (Schat, 2005) или с ФЭУ (Witter, неопубликованные данные), могла быть результатом выделения меньшего количества изолятов. Несмотря на эти проблемные моменты, в наших исследованиях были получены 20 изолятов ВБМ 1-го серотипа, охарактеризованных и составивших основу банка российских изолятов.

В первой серии экспериментов определяли вирулентность полученных изолятов, для чего группы однодневных цыплят, по десять голов в каждой, инфицировали исследуемыми изолятами ВБМ в дозе 500 БОЕ на цыпленка. В качестве контролей использовали группу незараженных цыплят и две группы, инфицированных референтными штаммами Md5 и JM/102W в дозе по 500 БОЕ на цыпленка. Птиц каждой группы содержали строго изолированно. Продолжительность опытов составила 8 недель с ежедневным наблюдением и учетом проявления клинических признаков. Всех павших цыплят подвергали вскрытию, учитывая патологоанатомические изменения, характерные для болезни Марека. В конце эксперимента всех выживших птиц подвергали эвтаназии ингаляцией углекислого газа, после чего проводили

вскрытие. Полученные данные по экспериментальным группам сравнивали с данными контрольных референтных групп.

Во второй серии экспериментов определяли степень патогенности изолятов. Группы однедневных цыплят, по 14 голов в каждой, вакцинировали двумя типами вакцин: часть групп – вакциной из штамма FC–126, часть – бивалентной. На пятый день после вакцинации цыплятам вводили внутривентриально исследуемые изоляты в дозе 500 БОЕ на цыпленка. Были также сформированы контрольные группы птиц, которых после вакцинации заражали референтными штаммами Md5, JM/102W и 648A. В качестве отрицательного контроля использовали группу незараженных цыплят. В течение эксперимента проводили тщательную регистрацию клинических признаков и гибели. Через 56 дней после инфицирования всю выжившую птицу подвергали эвтаназии и вскрывали с целью обнаружения патологоанатомических изменений, характерных для болезни Марека.

Результаты опытов выражали как относительное значение следующих показателей: синдром ранней смертности (СРС) (%), выявление признаков БМ у павшей птицы (%) или выявление признаков БМ (%) (обнаруженных как у погибшей, так и у убитой птицы), выведенное из числа зараженных цыплят за вычетом неспецифически погибших.

Средневзвешенная величина была рассчитана по выявлению признаков БМ (%) в группах, вакцинированных штаммом FC–126 и бивалентной вакциной, используя расчет по двойному средневзвешенному значению (метод Гаусса) для групп, вакцинированных бивалентной вакциной (значение выявления БМ (%) в группах, привитых: (FC–126 + бивалентной вакциной + бивалентной вакциной), деленное на 3).

Патотип полевого изолята устанавливали, основываясь на оценке вызванных им патологических изменений в сравнении с поражениями, индуцируемыми референтными штаммами. Принадлежность к установленному патотипу подтверждали вычислением распределения изолятов ВБМ по вирулентности относительно референтных штаммов.



Рис. 1. Регионы Российской Федерации, из которых за период 2001–2005 гг. были изолированы ВБМ 1 серотипа

Результаты

Географическое распределение изолятов ВБМ. Как видно из рис. 1, большинство изолятов было получено из европейской части Российской Федерации, где хорошо развита птицеводческая промышленность. Выделение образцов в основном проводили на птицефабриках, неблагополучных по болезни Марека, где наблюдалась различная степень интенсивности заболевания с варьирующим процентом проявления характерных неопластических изменений, выявляемых при вскрытии. На пяти птицефабриках удалось выделить по несколько изолятов 1 серотипа ВБМ.

Патотипирование полевых изолятов. Метод патотипирования «best fit» включает в себя оценку патологоанатомических изменений, выявляемых при вскрытии птицы, инфицированной полевыми изолятами, в сравнении с изменениями, которые вызывают референтные штаммы (Witter et al., 2005).

Поражения, вызываемые этими штаммами, должны быть аналогичными в повторяющихся опытах, но при этом четко различаться в зависимости от патотипа используемого штамма. В обоих экспериментах большинство поражений, вызванных референтными вирусами у цыплят породы Щелково, имели высокое сходство во всех трех повторяющихся опытах, что свидетельствовало о полной воспроизводимости результатов (табл. 1). Величины выявления признаков БМ (%) были также сопоставимы.

Таблица 1. Патотипирование полевых изолятов на СПФ-цыплятах линии Щелково методом «best fit»

Опыт	Вирулентный штамм	Выявление признаков БМ у непривитой птицы, (%)	Выявление признаков БМ у вакцинированной птицы, (%)			Патотип
			FC126	FC126 + 301B/1	Средневзвешенное*	
1	2	3	4	5	6	7
1	JM/102W	90	0	н/д	0	
	Md5	100	33	0	11	
	648A	н/д**	39	33	35	
	10A	100	39	25	30	vv+
	10B	100	23	18	20	vv
	23A	100	33	15	21	vv
	23B	100	21	25	24	vv+
2	4I	100	50	15	27	vv+
	4J	100	29	25	26	vv+
	JM/102W	67	0	н/д	0	
	Md5	100	36	0	12	
	648A	н/д	50	29	36	
	4B	100	43	21	29	vv+
	4D	100	39	23	28	vv+
3	8D	80	33	21	25	vv+
	22A/1	80	31	15	21	vv
	22A/2	80	31	14	20	vv
	22B/9	70	7	0	2	v
	11C/2	88	29	14	19	vv
	JM/102W	67	8	н/д	8	
	Md5	100	36	15	22	



1	2	3	4	5	6	7
	648A	н/д	64	42	49	
	6С	80	33	21	25	vv
	9А	50	39	15	23	vv
	14I	100	42	23	29	vv
	14H	80	43	39	40	vv+
	18I/1	80	29	21	24	vv
	19J/6	80	31	31	31	vv
	26E/1	90	38	25	29	vv

* Средневзвешенное значение от выявления признаков БМ (%) у цыплят, вакцинированных FC-126 и бивалентной вакциной; для бивалентной вакцины берут двойное значение среднего взвешенного (математическая величина).

** Не делалось.

При оценке патотипа изолятов 1 серотипа ВБМ было установлено, что степень вирулентности почти всех полевых изолятов была выше степени вирулентности контрольного штамма Md5 (vv), но ниже таковой референтного штамма 648A (vv+). Из двадцати исследуемых вирусов, только один 22В/9 был классифицирован как патотип v, так как показатели выявления БМ у павших птиц (%) и выявлению признаков БМ (%) у всех групп птиц больше соответствовали показателям, полученным для штамма JM/102W, чем для штамма Md5. Степень поражений, индуцированных остальными изолятами, была средней между показателями референтных штаммов Md5 и 648A. Основываясь на сравнении показателей выявления признаков БМ (%), у птицы, вакцинированной моно- и бивалентной вакциной, и особенно по средневзвешенной величине, восьми изолятам (4I, 4J, 4B, 4D, 8D, 10A, 14H и 23B) был присвоен патотип vv+. Одиннадцать изолятов (6C, 9A, 10B, 11C/2, 14I, 18I/1, 19J/6, 22A/1, 22A/2, 23A и 26E/1(2)) были отнесены к патотипу vv.

Обсуждение

Результаты наших исследований показывают, что метод патотипирования «best fit» является точным и практичным инструментом для классификации российских изолятов ВБМ по степени вирулентности. Двадцать изолятов ВБМ были успешно патотипированы путем сравнительной оценки патологических изменений, вызываемых у СПФ-птицы линии Щелково.

Прямое сравнение метода «best fit» со стандартным методом, применяемом в ADOL, в данном исследовании оказалось невозможным, поскольку были упрощены некоторые параметры экспериментов. Однако результаты, полученные в наших условиях, подтверждают достоверность применяемого метода. Референтные штаммы, как и ожидалось, постоянно индуцировали поражения, характерные для БМ, степень проявления которых оценивалась по уровню смертности и общему числу поражений у вакцинированных и невакцинированных цыплят. По этим показателям можно было дифференцировать патотипы различных изолятов. Во всех случаях степень поражений была наименьшей при инфицировании штаммом JM/102W, средней – для штамма Md5 и самой высокой при заражении штаммом 648A. Например, в трех повторяющихся опытах выявление признаков БМ (%) у вакцинированных штаммом FC-126 и инфицированных JM/102W цыплят составило 0–8% (среднее – 3%), у инфицированных штаммом Md5 – 33–36% (среднее – 35%), а при использовании штамма 648A – 39–64% (среднее – 51%). Эти значения коррелировали с результатами, полученными при исследованиях, проводимых в США (Witter, 1997). Вариабельность степени поражений в повторяющихся опытах была минимальной. Чувствительность птицы линии Щелково была достаточной для достижения полного диапазона поражений, от 5% у кур, вакцинированных бивалентной вакциной и



зараженных штаммом Md5 до 100% по показателю общего числа случаев БМ у невакцинированных кур, инфицированных Md5.

Эффективность метода «best fit» в условиях нашей лаборатории была доказана на основании того, что референтные штаммы были легко различимы при использовании в качестве модели СПФ-цыплят линии Щелково, а патотипирование полевых изолятов проводили путем сравнения с референтными штаммами.

Признаки характерных поражений, используемые для классификации, могут варьировать в зависимости от нескольких факторов. Так, например, штаммы JM/102W и Md5 четко различались по выявлению признаков БМ (%) у цыплят, вакцинированных штаммом FC-126, а также по выявлению БМ у павших птиц (%) и совокупному выявлению БМ (%) у невакцинированных птиц. Схожие различия наблюдались при заражении штаммами Md5 и 648A по совокупным выявляемым БМ (%) как в группах, привитых бивалентной вакциной, так и вакцинированных штаммом FC-126, а также по средневзвешенному значению этих показателей. Данные наших экспериментов с применением «best fit» метода аналогичны результатам, полученным ранее в США (Witter et al., 2005), за исключением того, что вместо штамма второго серотипа SB-1 (компонента бивалентной вакцины) был использован штамм 301B/1. Иммуногенность штамма 301B/1 идентична иммуногенности штамма SB-1 (Witter, 1983; Witter, 1987), поэтому данная замена не повлияла на результаты опытов.

В нашем исследовании была усовершенствована математическая модель классификации полевых изолятов относительно референтных штаммов. Как упоминалось ранее, патотипы v и vv наиболее показательно различались по выявлению признаков БМ (%) в группах невакцинированных цыплят, а также по выявлению признаков БМ (%) у цыплят, привитых штаммом FC-126 и бивалентной вакциной. Введение средневзвешенного значения для этих величин показывает, как единичный признак может служить основным критерием для различия патотипов vv и vv+. Эмпирически было установлено, что необходимо использовать данные по группам птиц, получившим разные вакцины, но результаты по цыплятам, привитым бивалентной вакциной, оказались наиболее важными и заслуживающими вычисления двойного средневзвешенного значения по методу Гаусса. Такое объединение данных для расчета степени вирулентности уже имело место в опытах с использованием двух линий птиц (Witter, 1997). Более того, расчет точки распределения исследуемого изолята в шкале вирулентности позволил математически обосновать простое визуальное сравнение патологоанатомических изменений. В наших исследованиях, вычисление точки распределения основывалось на средневзвешенной величине и помогало обозначить патотип изолятов, попадавших между референтными штаммами Md5 и 648A. Эти изменения и позволили нам усовершенствовать эффективность метода «best fit».

Двадцать изолятов, выделенных на 12-ти птицефабриках, описанные в этой статье, являются ограниченной выборкой из всех полевых вирусов БМ, циркулирующих на территории Российской Федерации. Все изоляты были получены из хозяйств с явным проявлением комплекса клинических и патологоанатомических признаков БМ.

По патотипу исследованные изоляты практически не отличались от вирусов БМ, выделенных в США (31 изолят) в период с 1987 по 1995 год (Witter, 1997). Девятнадцать российских изолятов обладали средней степенью вирулентности и находились в диапазоне между референтными штаммами Md5 и 648A. У восьми был определен патотип vv+, но ни один из них не превосходил по вирулентности 648A и даже не превысил уровня штамма 686 (Witter & Kreager, 2004). Однако было выявлено, что все изоляты обладали достаточной вирулентностью, чтобы вызывать болезнь у вакцинированного поголовья.

К патотипу v был отнесен единственный изолят 22В/9, но и он обладал способностью индуцировать опухоли у 70% невакцинированных кур. Изоляты с более низким уровнем вирулентности выделить не удалось. Учитывая наличие в нашей стране регионов, где БМ воз-



никает редко или отсутствует вовсе, мы можем прогнозировать вероятность открытия новых штаммов с низкой вирулентностью, либо природно-авирулентных, которые могут стать продуцентами вакцинных препаратов нового поколения, способствующих повышению сохранности птицепоголовья в России.

Данный проект, объединяющий сведения о патогенности штаммов, циркулирующих на территории РФ, их казуальности в клинических проявлениях БМ в полевых условиях, является первым в России. В период проведения исследований серьезность проблем по БМ в Российской Федерации снизилась, поэтому представляется маловероятным, что недавние вспышки заболевания возникали исключительно из-за появления высоко вирулентных штаммов. Снижение инцидентов и серьезности вспышек БМ может быть связано как с развитием систем ведения птицеводческой промышленности, так и с совершенствованием практики вакцинации.

Наши результаты показывают, что патотипирование ВБМ методом «best fit» было успешно применено у нас в стране. Основные компоненты, необходимые для успешного выполнения метода, минимальны и общедоступны. Единственным уникальным материалом являются вирусы референтных штаммов JM/102W, Md5 и 648A, которые имеются в наличии в ATCC (American Type Culture Collection, USA, Massachusetts, VA). Важным критерием остается подбор линии птицы с надлежащей чувствительностью и создание соответствующих условий ее содержания, полностью исключающих возможности контаминации групп различными вирулентными штаммами. Широкое использование апробированной нами методики патотипирования должно помочь в стандартизации данных, а также унифицировать результаты, полученные в разных странах.

Аттенуация вирулентных штаммов первого серотипа ВБМ и изучение их протективных свойств

Дудникова Е.К.; Норкина С.Н.; Власов А.Н.; Джулардов Г.В. – НПП «АВИВАК», Институт Вирусологии им. Д.И. Ивановского РАН;
Richard L. Witter – USDA ARS Avian Disease and Oncology Laboratory, 3606 East Mount Hope Road, East Lansing, MI, 48823, USA

Болезнь Марека (БМ) – широко распространенное и наносящее значительный экономический ущерб лимфопролиферативное заболевание цыплят – в настоящее время контролируется в коммерческом птицеводстве применением спектра живых вакцин на основе аттенуированных и природно-апатогенных БМ-родственных герпесвирусов. Однако, остается причина для разработки улучшенных вакцин – спорадические случаи увеличения потерь от БМ в вакцинированных стадах птицы, связанные с повышением вирулентности полевых штаммов. Необходимо признать тот факт, что эффективность существующих вакцин, особенно на основе вирусов третьего серотипа, постепенно снижается. Несмотря на наличие препаратов из штаммов второго и третьего серотипов, особое внимание направлено на вирусы первого серотипа, ввиду их неоспоримо доказанной высокой эффективности. Широкое и повсеместное применение вакцины из штамма *Rispens* не останавливает попыток создать альтернативный, не менее иммуногенный препарат на основе аттенуированного высоковирулентного штамма ВБМ первого серотипа с целью оптимизации антигенной гомологичности большинству циркулирующих полевых вирусов. Основными характеристиками такого препарата должны быть: полное отсутствие реверсibility, быстрое размножение как *in vivo*, так и *in vitro* и создание высокого уровня защиты от раннего заражения сверхвирулентными штаммами ВБМ в присутствии материнских антител к ВБМ различных серотипов.



Целью наших исследований являлось определение влияния способа аттенуации на скорость потери вирулентности исследуемыми штаммами ВБМ 1 серотипа и изучение протективных свойств полученных аттенуантов. В работе были использованы шесть охарактеризованных изолятов, предоставленных Лабораторией онкологических болезней птиц (ADOL) (из которых три штамма (GA/22, 596A, 617A) представляли группу вирулентных штаммов (v) и три (645, 660, 686) – очень вирулентных (vv+).

Аттенуацию вирусов проводили по трем схемам:

1. По классической схеме (последовательное пассирование) с использованием культуры клеток фибробластов СПФ-эмбрионов кур (КФ) (стратегия А);
2. С применением метода высоких разведений для получения возможных мутаций вирусов, после чего переходили на альтернативную стратегию для поддержания селекции мутантов. Применяли, начиная с 31-ого пассажа и повторяли через каждые 5 пассажей до 64-ого включительно, после чего продолжали пассирование по классической схеме (стратегия В);
3. По классической схеме с использованием гетерологичной культуры клеток фибробластов эмбрионов японских перепелов (ПФ) (стратегия С).

Для каждого изолята была определена индивидуальная схема аттенуации, учитывающая исходную вирулентность вируса, частоту пассирования методом высоких разведений (промежутки между пассажами) (для стратегии В), оптимальную величину заражающей дозы (ФОЕ) и тип клеточного субстрата. Все шесть штаммов были пассированы до 116–131 уровней по трем стратегиям.

По мере пассирования исследуемые штаммы проверяли на птице для предварительной оценки степени патогенности полученных аттенуантов и определению конкретной точки потери вирулентности (пассажный уровень) для каждого из них.

В опытах использовали СПФ цыплят по линии Щелково, чувствительность которых к ВБМ была определена заранее. Патогенность исследуемых изолятов оценивали в сравнении с референтными штаммами Jm/102w (v) и Md5 (vv) ВБМ. Материал вводили внутрибрюшинно суточным цыплятам в заражающей дозе 500 БОЕ в объеме 0,1 мл.

Каждую группу птиц содержали строго изолированно в течение 56 дней, наблюдая за проявлением клинических признаков, особенно с 9 дня после заражения до 20 (срок появления переходящих параличей) и регистрируя специфическую гибель. Через 56 дней после заражения выжившие цыплята были подвергнуты эвтаназии и вскрытию с целью обнаружения патологоанатомических изменений.

Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Точка потери вирулентности (пассажный уровень) аттенуированными штаммами ВБМ 1 серотипа

Патотип	Штамм	Пассажный уровень			Среднее значение	Среднее значение по патотипам
		Стратегия				
		А	В	С		
1	2	3	4	5	6	7
v	GA22	86	70	76	73	
	596A	74	63	58	65	
	617A	86	81	70	79	
	Среднее значение	82	71	68		74
vv+	645	79	75	>100	77	
	660A	131	116	>116	121	
	686	>131	>116	>116	121	
	Среднее значение	114	102	110		109



Как видно из данных табл. 1, основная часть штаммов ВБМ была полностью аттенуирована, однако нам не удалось добиться полной потери вирулентности у ряда изолятов. Меньшее число пассажей понадобилось для вирусов группы вирулентных (v) – 58–86. Аттенуация высоковирулентных (vv+) вирусов потребовала большего количества пассажей (75–131). Штаммы 645 и 660А проявили остаточную вирулентность только в стратегии С на 100 и 116 пассажах соответственно, тогда как штамм 686 не потерял полностью свою вирулентность при аттенуации по всем схемам. Было принято решение использовать в тесте на иммуногенность те пассажи данных вирусов, в которых они проявили наименьшую вирулентность. Налицо также тот факт, что полная аттенуация все трех штаммов группы вирулентных была достигнута быстрее (потребовалось меньшее число пассажей) при применении схем В и С.

В серии следующих опытов проводили оценку полученных аттенуантов по их протективным свойствам с целью выявления наиболее перспективных вакцинных штаммов. Иммуногенность каждого вируса определяли в сравнении с применяемыми в настоящее время в промышленной практике вакцинными штаммами ВБМ 1 и 3 серотипа, используя в качестве контрольного высоковирулентный штамм 648А ВБМ.

Для каждого эксперимента были сформированы группы СПФ-цыплят по 14 голов в каждой. В первый день после выведения цыплятам инокулировали исследуемые аттенуированные штаммы в дозе 2000 ФОЕ. Три контрольные группы были привиты вакцинными штаммами: первая группа – препаратом 3 серотипа (ВГИ), вторая – бивалентным ВГИ + Rispens и третья – Rispens. На шестой день после вакцинации цыплят всех групп заразили внутрибрюшинно высоковирулентным штаммом 648А ВБМ в дозе 500 ФОЕ. Также были сформированы две группы невакцинированных цыплят, одна из которых была заражена штаммом 648А.

Подопытную птицу наблюдали в течение 56 дней после заражения, регистрируя специфическую гибель. По окончании этого срока всех выживших цыплят подвергли эвтаназии и провели вскрытие с целью обнаружения патологоанатомических изменений. После определения суммарного поражения болезнью Марека (% БМ) среди павших и выживших цыплят в каждой группе вычисляли защитный индекс проверяемых штаммов по формуле:

$$\text{Индекс защиты (\%)} = \frac{\frac{\% \text{ БМ в невакцинированной зараженной группе}}{\% \text{ БМ в невакцинированной зараженной группе}} - \frac{\% \text{ в вакцинированной зараженной группе}}{\% \text{ БМ в невакцинированной зараженной группе}}}{\% \text{ БМ в невакцинированной зараженной группе}} \times 100$$

Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Протективные свойства аттенуированных штаммов вирулентных штаммов 1 серотипа ВБМ

Штаммы	Пассаж*	Опыт 1		Опыт 2		Опыт 3		Среднее		
		% БМ**	ИЗ***	% БМ	ИЗ	% БМ	ИЗ	ИЗ%		
1	2	3	4	5	6	7	8	9		
стратегия А										
GA/22	v	86	39	62	39	62	29	72	65	73
596A		74	15	85	0	100	15	85	90	
617A		86	58	42	23	77	29	71	63	
645	vv+	79	21	79	29	71	29	71	74	79
660A		131	21	79	17	83	29	71	78	
686		>131	15	85	0	100	29	71	85	



1	2	3	4	5	6	7	8	9		
стратегия В										
GA/22	v	70	0	100	14	86	7	92	93	79
596A		63	0	100	14	86	0	100	95	
617A		81	46	54	54	46	50	50	50	
645	vv+	75	39	62	31	69	31	69	67	79
660A		116	0	100	0	100	16	85	96	
686		>116	39	62	15	85	29	71	73	
стратегия С										
GA/22	v	76	21	79	21	79	31	69	76	80
596A		58	14	86	14	86	0	100	91	
617A		70	21	79	31	70	29	71	73	
645	vv+	>100	39	62	0	100	29	71	78	63
660A		>116	31	69	36	64	46	54	62	
686		>116	50	50	50	50	50	50	50	
контроль										
Rispens		7	93	14	86	7	93	91		
HVT		43	57	57	43	57	43	48		
301B/1 + HVT		21	79	36	64	29	71	71		
невакцинированные зараженные		100		100		100				

* Пассажный уровень, на котором штамм был полностью аттенуирован. Значение со знаком > указывает на то, что штамм не был аттенуирован полностью

** % БМ – суммарно выявленные признаки БМ (у павших и у выживших цыплят)

*** ИЗ – индекс защиты (%)

Как видно из данных табл. 2, такая характеристика вируса, как принадлежность к определенному патотипу, не влияла на протективные свойства аттенуантов, так как средние значения индекса защиты для групп v (73; 79; 80) и vv+ (79; 79; 63) статистически не имели различий. Использование различных стратегий аттенуации в целом также не отражалось на иммуногенных свойствах полученных вирусов, поскольку средние значения индексов защиты для каждой схемы, вычисленные как средние по двум патотипам: A=76; B=79; C=72 также достоверно не различались.

Существенные вариации индивидуальных показателей протективной способности наблюдали у отдельных штаммов, вне зависимости от их принадлежности к определенному патотипу. Интерес представляли штаммы, индекс защиты которых был сравним с показателями вакцинного штамма Rispens.

Так, самый высокий уровень защиты наблюдался в трех группах, вакцинированных штаммами: GA/22(v), 596A(v) и 660A(vv+), аттенуированных по схеме В. Показатели индексов защиты этих штаммов составили 93–95%, что максимально приближено и даже превышает экспериментально полученное значение индекса защиты штамма Rispens (91%).

Достаточными протективными свойствами обладали штаммы 596A(v) и 686(vv+), аттенуированные по стратегии А. Индекс защиты в этих случаях составил 85–90%.

Практически не уступали им по иммуногенности штаммы 596A(v) и 645(vv+), полученные по стратегии С – 91% и 78% соответственно.

Наименьшее значение – 50%, показали штаммы 617A(v) в стратегии В и 686(vv+) в стратегии С. Индекс защиты для остальных штаммов ВБМ находился в пределах 62–86%.

Особо хотелось отметить, что штамм 596A(v) обладал высокой степенью защиты после аттенуации по всем трем схемам – 90%, 95% и 91%. Интересен тот факт, что для этого штамма



потребовалось наименьшее по каждой стратегии количество пассажей для полной потери патогенности, из чего можно сделать предположение, что более быстрая аттенуация усиливает протективные свойства аттенуируемого штамма.

Основываясь на результатах, полученных при исследовании 18 финальных штаммов ВБМ, мы пришли к следующим заключениям:

- Принадлежность к определенному патотипу оказывает влияние на скорость аттенуации, поскольку вирулентные вирусы (v) теряют свою патогенность быстрее, чем высоковирулентные (vv+);
- скорость аттенуации существенно зависит от индивидуальных свойств штамма;
- пассирование вирусов БМ первого серотипа с использованием стратегии В или С может ускорить процесс аттенуации;
- индекс защиты аттенуированных штаммов не зависит от начальной принадлежности штамма к определенному патотипу и применяемой схемы аттенуации.

Инфекционный бронхит кур (на заметку практикующему врачу)

Николаева И. П., к.в.н. – НПП «АВИВАК»

Инфекционный бронхит кур (ИБК) – остро протекающая высоко контагиозная болезнь вирусной этиологии. Восприимчивы куры всех возрастов. У цыплят она проявляется респираторным и уремическим синдромами, у кур – поражением репродуктивных органов, что ведет к длительному снижению яйценоскости.

Основным источником инфекции служат больные и переболевшие цыплята и куры, которые выделяют вирус во внешнюю среду или остаются вирусоносителями до 39–105 дней после переболевания. Из организма больной птицы вирус выделяется со слюной, истечениями из носа и глаз, с пометом. Птица заражается, в основном аэрогенным путем, а также через инфицированные корм, воду, окружающие предметы, обслуживающий персонал. У петухов вирус выделяется со спермой, что не исключает передачи инфекции половым путем; также доказана возможность передачи вируса ИБК трансвариально.

В большинстве случаев болезнь протекает бессимптомно и проявляется только снижением яйценоскости, ИБК заслуживает внимания как синергист комплекса – «хроническая респираторная болезнь» где находится совместно с микоплазмой, *E. coli* и как болезнь, являющаяся непосредственной причиной снижения яйценоскости у кур-несушек.

На долю ИБК приходится около 20% всех болезней органов дыхания птицы и она является одной из опасных болезней. Экономический ущерб велик, и он складывается из снижения массы птицы, ее гибели, снижения яйценоскости на 20–89% и гибели эмбрионов. При ИБК происходит большой процент выбраковки яйца вследствие пороков – неправильная форма, сильное загрязнение скорлупы, «красюк», выливка. При хранении происходит частичная потеря ценности яиц – снижение содержания незаменимых жирных кислот в желтке куриных яиц.

Вирус инфекционного бронхита (ВИБ) является позитивно-нитчатый РНК-овым вирусом и прототипом семейства *Coronaviridae*. Геномная РНК представляет собой односпиральную линейную молекулу. Инфекционностью обладает вирионная РНК.

Устойчивость вируса к физико-химическим воздействиям слабая. В трупах павшей птицы его активность быстро исчезает. В питьевой воде при комнатной температуре вирус сохраня-



ется в течение 11 часов. В условиях птичника при температуре +17...+23° С и относительной влажности воздуха 60–90% вирус ИБК теряет биологические свойства в течение 4–7 суток; осенью, при +12...+18° С и 50–74% влажности в течение 12–14 дней; зимой, при +7...+13,5° С и 39–66% влажности – 13–21 день. Нагревание до +56° С инактивирует возбудитель в течение 15 минут. Вне помещения при плюсовых температурах выживаемость вируса существенно не отличается, в то время как при минусовых температурах вирус сохраняется до 44 дней. В пухе и перу вирус в помещении сохраняет жизнеспособность до 12 суток, а на поверхности яиц 8–9 дней.

Растворы хлорной извести, содержащие 0,2 и 0,3% активного хлора, 0,3 и 0,6%-ный раствор едкой щелочи инактивируют вирус ИБК за 10 минут, а 0,1%-ный раствор формалина – за 5 минут.

В нашей стране ИБК регистрируется с 1968 г. Есть предположение, что на территории России циркулируют несколько генетически различных групп изолятов вируса ИБК. Первую составляют изоляты, имеющие высокое генетическое сходство со штаммами серотипа Масса-чусетс, который является географически наиболее широко распространенным. Реже встречается серотип Коннектикут. Изоляты IBV–6/98, IBV–7/98 и IBV–9/98 значительно отличаются от всех имеющихся в банке данных штаммов. На основе этого можно предположить, что эти изоляты имеют оригинальные антигенные свойства, а низкая степень их гомологии между собой указывает на то, что они могут образовывать свои антигенные группы. Для более точного выяснения эпизоотологической ситуации по ИБК очевидна необходимость дальнейшей работы по выявлению и дифференциации «российских» изолятов вируса с применением не только серологических, но и молекулярно-биологических методов диагностики (ПЦР). Профилактика ИБК затруднена тем, что возбудитель заболевания имеет множество серотипов, отличающихся в антигенном отношении.

Хотя, ИБК считается, главным образом, заболеванием респираторной системы, разные штаммы ИБК показывают вариабельный тканевой тропизм и поражают также яйцевод и почки с тяжелыми последствиями. Некоторые штаммы реплицируются в кишечнике, но явно без патологических изменений.

Инкубационный период при ИБК длится от 18 до 36 часов. Появление клинических признаков зависит от возраста птицы.

При ИБК отмечают три клинических синдрома: респираторный, нефрозо-нефритный и репродуктивный.

Респираторный синдром характеризуется кашлем, трахеальными хрипами, носовыми истечениями, затруднением дыхания (с открытым клювом), иногда конъюнктивитом, ринитом, синуситом, больные плохо поедают корм, слабеют и становятся сонливыми. Перья взъерошены, крылья опущены. Высокая летальность наблюдается, главным образом, среди цыплят до месячного возраста. Причина гибели – асфиксия. У молодняка 2–3-месячного возраста она может достигать 90%, но чаще колеблется в пределах 10–35%. Больная птица отстает в росте и развитии. Заболевание цыплят в раннем возрасте может привести к аномальному развитию репродуктивных органов с необратимыми последствиями, и появлению кур, которые не могут нести яйца, так называемых, «ложных» несушек. У цыплят 30–60-дневного возраста ИБ протекает обычно хронически и в ассоциации с колибактериозом. Заболевание продолжается 3–6 дней, и к 15 дню состояние становится удовлетворительным.

Патологоанатомическая картина при респираторном синдроме в острых случаях выглядит так: отек и гипермия легких, в бронхах и трахее – обильное количество серозно-слизистого экссудата с примесью хлопьев фибрина. Просветы отдельных бронхов полностью заполнены плотной фибриновой массой. Легкие вокруг первичных бронхов темно-красные и уплотнены. В полости воздухоносных мешков пенистый экссудат с хлопьями фибрина. У маленьких цыплят – катаральный ринит и синусит.



Нефрозо-нефритный синдром вызывает острое течение болезни, у больных птиц отмечают депрессию и диарею с примесью уратов. При первичной циркуляции вируса в хозяйстве, летальность при данной форме болезни достигает 57–70%.

При нефрозо-нефритном синдроме патологоанатомическая картина почек схожа с картиной подагрического нефрита. Почки желто-коричневые, рисунок пестрый, вследствие скопления уратов в мочевых канальцах. Консистенция дряблая. Мочеточники растянуты мочекислыми солями. Клоака и прямая кишка наполнены жидким содержимым молочного цвета. Отмечают общий цианоз тушки, дегидратацию и неравномерное окрашивание скелетных мышц.

Репродуктивный синдром проявляется обычно у кур старше 6 месяцев. Заболевание протекает бессимптомно или с незначительным поражением органов дыхания. Единственным проявлением болезни в этих случаях является длительное снижение яйценоскости. Продуктивность кур, переболевших в возрасте до трех недель, на 35–65% ниже, чем не переболевших. У переболевших взрослых кур отмечают временное (4–5 недель) снижение яйценоскости на 20–30%. В дальнейшем яйценоскость восстанавливается, но не достигает прежнего уровня. Переболевшие куры долгое время несут мелкие яйца с тонкой скорлупой неправильной формы.

При репродуктивном синдроме у взрослых кур наблюдают атрофию яйцевых фолликулов, кисты яичников. В яйцеводе – кисты, перетяжки, признаки сальпингита. Зрелые фолликулы имеют дефекты, желток, просачиваясь сквозь теку, скапливается в грудобрюшной полости, может развиваться желточный перитонит. У «ложных» несушек просвет яйцевода зарастает. Овуляция у них происходит в полость тела.

Предварительный диагноз основан на анализе клинико-эпизоотологических данных и патологоанатомических изменений. Возникновение в птичнике болезни с признаками поражения органов дыхания у цыплят и снижением яйценоскости у кур, высокая контагиозность и установление на вскрытии в дыхательных органах характерного серозно-слизистого экссудата, а у кур – поражений яичников, позволяют предположить, что птица болеет ИБК.

Основным средством борьбы с ИБК является специфическая профилактика с применением живых и инактивированных вакцин.

Живые вирусвакцины – это, как правило, искусственно ослабленные посредством ряда последовательных пассажей в чувствительной тест-системе, природные авирулентные или слабовирулентные штаммы вируса, которые в серийных пассажах на естественно восприимчивых животных не проявляют повышения вирулентности и потеряли способность к горизонтальной передаче.

Основные преимущества живых вакцин – активизация всех звеньев иммунной системы, вызывающая сбалансированный иммунный ответ (системный и локальный, иммуноглобулиновый и клеточный). Это играет особую роль, когда клеточный иммунитет важен, а также при инфекциях слизистых оболочек, где требуется как локальный, так и системный иммунитет. Местное применение живых вакцин обычно является более эффективным для стимулирования локального ответа.

Живые вакцины создают раннюю неспецифическую защиту, развивающуюся уже через 1–2 дня, благодаря явлению гомологичной интерференции.

В идеале вакцинация должна повторять иммунологические стимулы естественной инфекции, сводя до минимума нежелательный эффект. Она должна вызывать высокий уровень иммунитета при небольшой дозе вакцины, слабую и кратковременную общую и местную реакции и продолжительный иммунитет.

Для создания более прочного и продолжительного иммунитета производят и применяют инактивированные вакцины.



Инактивированные вакцины менее реактогенны, менее опасны осложнениями при проведении массовой иммунопрофилактики, их применяют для усиления иммунитета, созданного живыми вакцинами. Инактивированная вакцина, в отличие от живой, малоэффективна для предотвращения респираторной формы болезни у бройлеров. Однако, она весьма полезна для профилактики снижения яйценоскости.

Одним из производителей вакцин против ИБК в России является НПП «АВИВАК». Живые вакцины обычно производят, используя вирус ИБК серотип Массачусетс, вакцинные штаммы «Н–120», «Н–52», «АМ». Для инактивированных эмульсионных вакцин используют вирус серотипа Массачусетс, патогенный штамм «Чапаевский», который применяют моно- или в сочетании с инактивированными антигенами вирусов НБ, ИББ, ССЯ–76, РЕО в различных комбинациях.

В мировой практике применяемые схемы вакцинации несколько отличаются друг от друга, но основной принцип один. Первая вакцинация проводится с использованием менее вирулентного штамма, живой вакциной, вторая более вирулентным и иммуногенным, тоже живой вакциной и третья – с использованием инактивированной вакцины.

Ремонтный молодняк промышленных и племенных кур первый раз вакцинируют сухой вирусвакциной «АВИВАК ИБК» из штамма «Н–120» или «АМ» в возрасте 1–3 недели. Вторая вакцинация проводится в возрасте 7–8 недель.

Однократная вакцинация ведет к повышению уровня АТ к 28 дню, но напряженность иммунитета низкая. Максимальный уровень напряженности иммунитета наблюдается после второй вакцинации через 3 недели независимо от интервала (2, 3, 4 недели). Установлено, что трансмиссия вируса значительно редуцируется у вакцинированного поголовья.

В неблагополучных по ИБ хозяйствах допускается вакцинация ремонтного молодняка в 1-суточном возрасте вакциной из штамма «Н–120» или «АМ». Ревакцинация – вакциной из штамма «Н–120» или «АМ» в 12–18 дней или третья вакцинация вакциной из штамма «Н–52» в 7–8 недель. Заключительную вакцинацию проводят инактивированной вакциной в возрасте 16–18 недель. Программа вакцинации должна быть полностью завершена не позднее, чем за три недели до начала яйцекладки. Вакцинацию молодняка в течение двух последних недель перед началом яйцекладки проводить нецелесообразно, так как в это время антитела не вырабатываются. Вакцинация несушек в период высокой яйценоскости вызывает снижение продуктивности.

Бройлеров вакцинируют в суточном возрасте вакциной из штамма «Н–120» и ревакцинируют в возрасте 1–3 недели.

Инактивированную вакцину применяют в неблагополучных и угрожаемых племенных и товарных хозяйствах с целью создания у взрослого поголовья кур, а также полученных от них цыплят невосприимчивости к ИБК, НБ, ИББ, РЕО и ССЯ–76 в возрасте 100–120 дней.

Живые вакцины вводят энтерально с водой, в виде капель в глаз, нос или спрей-методом. Инактивированные – методом однократной инъекции в грудную мышцу, так как это способствует образованию более прочного иммунитета, чем аэрозольная вакцинация.

Таким образом, широкое применение живых и инактивированных вакцин является основным средством иммунопрофилактики ИБК и позволяет обеспечить благополучие в хозяйствах.



Оценка протективных свойств вакцины «АВИВАК-ИБК» из штамма Н-120

Бахарева Н. В.; Козаков С. Л.; Кузовлева А. Г.; Норкина С. Н.; Терентьева Е. В. –
НПП «АВИВАК»

Инфекционный бронхит (ИБК) – острое контагиозное заболевание цыплят и кур различного возраста. Основным способом борьбы с болезнью является профилактическая вакцинация молодняка и несушек, в связи с чем эффективность проводимых мероприятий во многом зависит от качества вакцины.

Прошло более 50 лет с момента, когда от цыплят из провинции Брабант (Нидерланды) был выделен вирус инфекционного бронхита кур, который, пройдя 120 последовательных пассажей через эмбрионы кур, стал известен как вакцинный штамм Н-120 (Bijlenga et al., 2004). Вместе с тем, известно, что штаммы вируса ИБК, при пассажировании на развивающихся куриных эмбрионах, постепенно снижают не только свою вирулентность и, как следствие, реактогенность, но и иммуногенность (Kliev A. V., Cumming B. V., 1988). Примером такого длительного пассирования может служить апатогенный неиммунизирующий штамм Beaudette, который не вызывает изменений в мерцательном эпителии трахеи и развивается преимущественно в субэпителиальных клетках (Geilhausen H. E. et al., 1973). В связи с этим нам представлялось интересным узнать иммуногенную активность вируса штамма Н-120, используемого нами для производства вакцины.

Материалы и методы

Материалы

1. Производственный вирус инфекционного бронхита кур штамма «Н-120» с активностью 5,79 Ig ЭИД/мл;
2. Вирулентный вирус инфекционного бронхита кур штамма «Чапаевский» с активностью 5,2 Ig ЭИД₅₀/мл;
3. SPF-цыплята.

Методы

Двухнедельные цыплята были разделены на 4 группы по 10 голов, размещены в отдельные изоляторы и обработаны следующим образом:

- птиц 1 и 2 группы не вакцинировали;
- цыплята из 3 и 4 группы были иммунизированы соответственно перорально (per os) и интратрахеально (i/tr) вакцинным вирусом ИБК штамма «Н-120» в дозе 3,5 Ig ЭИД₅₀/гол.

Через 3 недели после вакцинации птиц из 2, 3 и 4 группы интратрахеально заражали вирулентным вирусом ИБК штамм «Чапаевский» (0,1 мл) в дозе 2,7±0,1 Ig ЭИД₅₀.

На 38 и 41 день опыта во всех группах убивали по 5 цыплят и незамедлительно исследовали эксплантаты, приготовленные по Darbyshire J. H. (1980). Для этого каждую трахею удаляли с минимальным травматизмом и поперечно разрезали на кольца, толщиной около 1,5 мм. Из верхней части трахеи вырезали 3 эксплантата, из средней части – 4 и из нижней – 3, получая таким образом по 10 эксплантатов от каждой птицы. Индивидуальные эксплантаты для предотвращения высыхания помещали в теплую питательную среду MEM с температурой 37° С и исследовали в световом микроскопе при малом увеличении (x200). Цилиарная активность (подвижность ресничек) характеризовалась своеобразным «мерцанием» эпителия (рис. 1), выстилающего внутреннюю поверхность трахеи. Птиц, давших 50% и более эксплантатов с цилиарной активностью, считали иммунно защищенными от действия вирулентного вируса ИБК.



НПП «АВИВАК»

АВИВАК-АКВАКОЛОР

Контроль
качества
вакцинации



Препарат
для
окрашивания воды

WWW.AVIVAC.COM

Тел.: (812) 346-58-54, 346-58-53, (495) 785-18-01



АВИВАК-АКВАКОЛОР

- позволяет контролировать качество вакцинации;
- нейтрален по отношению к вакцинным препаратам;
- безвреден для человека и птиц;
- лечебными свойствами не обладает.

Порядок применения:

Содержимое пакета (1-10 гр.) высыпает в пластиковую ёмкость объёмом не менее 200,0 куб. см. и добавляют 100,0 мл. воды комнатной температуры и перемешивают до полного растворения. Затем концентрированный раствор вносится в необходимый для вакцинации объём воды и, через 5-10 мин. после перемешивания, проводится растворение вакцины. Дозировка препарата берётся из расчёта 1 гр. на каждые 50 л. воды.

При потреблении птицей питьевой воды, окрашенной препаратом и растворённой в ней вакциной, происходит окрашивание части языка, что позволяет визуально оценить потребление вакцины птицей в течении 1,5 часа после иммунизации.

*Гарантия здоровья
вашей птицы!*

WWW.AVIVAC.COM

Тел.: (812) 346-58-54, 346-58-53, (495) 785-18-01

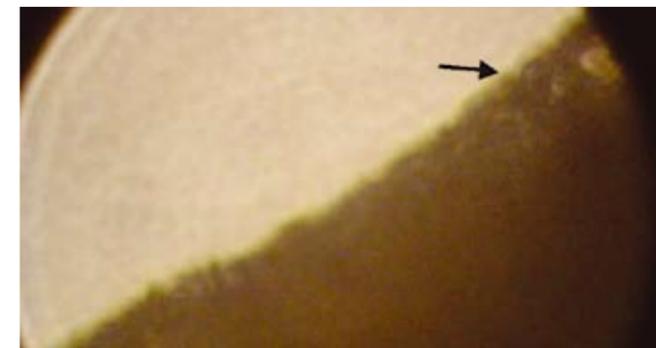


Рис. 1. Мерцательный эпителий в трахеальном эксплантате

Результаты исследования

Как видно из табл. 1, у цыплят контрольной группы цилиарная активность сохранялась во всех эксплантатах, что служит подтверждением чистоты проводимого эксперимента.

У невакцинированных птиц из группы 2, зараженных вирулентным вирусом ИБК штамм «Чапаевский», подвижность трахеальных ресничек отсутствовала, однако на 6 день после заражения в отдельных эксплантатах наблюдали начальную стадию репарации мерцательного эпителия.

У большинства цыплят из группы 3, привитых перорально, на 3-й день после заражения выявлено наличие подвижности ресничек в 8-10 эксплантатах, что свидетельствует об их защищенности от действия вирулентного вируса. И только у одного из 5 привитых цыплят наблюдали отсутствие «мерцания» эпителия в 6 трахеальных кольцах. На шестой день после инфицирования вирусом ИБК штамм «Чапаевский» цилиарную активность отмечали у всех птиц.

У цыплят, вакцинированных интратрахеально группа 4, уже на 3-й день после заражения обнаружена цилиарная активность в 100% случаев.

Таблица 1. Цилиарная активность эксплантатов цыплят

№ группы	Группа подопытных птиц	Через 3 дня после заражения					Через 6 дней после заражения				
		№ цыпленка					№ цыпленка				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Контроль	10*	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2	Вирус ИБК штамм «Чапаевский»	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0
3	H-120 per os + штамм «Чапаевский»	10	8	10	4	9	10	10	10	10	10
4	H-120 in/tr + штамм «Чапаевский»	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10

* Количество эксплантатов, обладающих цилиарной активностью

Выводы

Полученные результаты показывают, что применяемый для изготовления вакцин против ИБК производственный вирус инфекционного бронхита кур штамм «H-120» продолжает являться достаточно иммуногенным по отношению к вирулентным вирусам инфекционного бронхита кур, относящихся к серотипу Массачусетс.



Ассоциированное течение инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости кур

Хохлачев О. Ф.; Терюханов А. Б. – НПП «АВИВАК»

Устойчивое экономическое благополучие птицеводств яичного направления может быть достигнуто в результате успешного решения главной задачи – удержания на высоком уровне показателей сохранности и яичной продуктивности поголовья кур при оптимальных объемах производственных затрат.

Широкое внедрение в птицеводстве современных интенсивных технологий, переход многих хозяйств на новые высокопродуктивные кроссы кур позволяет получать в большом количестве инкубационное и пищевое яйцо. Однако следует учитывать, что птица высокопродуктивных кроссов и линий более зависима от условий содержания и кормления и проявляет повышенную чувствительность к возбудителям инфекционных болезней.

Случаи внезапного снижения яичной продуктивности кур-несушек продолжают регистрироваться в различных регионах России и остаются серьезной проблемой промышленного птицеводства.

В качестве основных причин снижения яйценоскости можно выделить технологические факторы и факторы инфекционной этиологии, которые, однако, существенно различаются по динамике проявления.

Так, при нарушении тех или иных технологических процессов или неудовлетворительном кормлении наблюдаются внезапные, продолжающиеся 1–2 недели, спады яичной продуктивности без существенного ухудшения качества яиц. При этом колебания яичной продуктивности отмечаются многократно на одном и том же птицепоголовье. Кроме того, в подобных случаях яйценоскость снижается одновременно во многих или во всех птичниках независимо от возраста несушек.

В случае, если внезапное снижение яйценоскости явилось следствием проявления инфекции (ньюкаслская болезнь (НБ), инфекционный бронхит (ИБК), инфекционный энцефаломиелит (ИЭМ), синдром снижения яйценоскости кур (ССЯ–76), респираторный микоплазмоз (МГ) или др.) период спада яичной продуктивности, как правило, длится 3–7 недель. При этом продуктивность может снижаться на 20–50% и после переболевания яйценоскость птиц, в основном, не восстанавливается до исходного уровня.

Синдром снижения яйценоскости кур (ССЯ–76) характеризуется резким спадом яичной продуктивности птицы, наступающим, как правило, в пик яйцекладки, в возрасте 180–240 дней. Заболевание сопровождается депигментацией и размягчением скорлупы, появлением бесскорлупных яиц, увеличением процента боя и насечки яиц. Количество снесенных некальцинированных и депигментированных яиц может достигать до 10–15% ежедневного валового сбора. Подобное проявление может продолжаться 5–7 недель.

При инфекционном бронхите кур (ИБК) резкое снижение яйценоскости наблюдается обычно на фоне высокой продуктивности в начале, середине или даже в конце максимальной яйцекладки. Снижение яичной продуктивности сопровождается, как правило, ухудшением качества скорлупы. Куры несут деформированные с ребристой скорлупой яйца. Иногда яйца имеют плоские участки на скорлупе, окруженные плотным валиком, с отходящими от него морщинистыми складками скорлупы. Яйца с таким покрытием получили название «солнышко» или «зеркальце».

После переболевания яичная продуктивность кур не восстанавливается и остается на 3–10% ниже первоначальной, предшествующей периоду спада. Но вместе с тем, повторных, глубоких спадов яйценоскости у переболевшего поголовья кур, как правило, не отмечается, поскольку птица приобретает иммунитет.



В доступной научной, справочной и методической литературе ИБК и ССЯ–76 описаны достаточно подробно. Однако мы не встретили описания ассоциированного течения этих инфекций у кур-несушек. Вместе с тем, нам неоднократно приходилось наблюдать одновременное течение этих болезней в птицеводствах яичного направления. В настоящей работе проанализированы и описаны основные признаки, характерные для инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости у кур-несушек, при ассоциированной форме течения инфекции. Приведены сравнительные результаты диагностического исследования экстрактов желтка яиц и сыворотки крови кур на ИБК и ССЯ–76.

Материалы и методы

Объектами изучения и анализа причин снижения яичной продуктивности у кур явились промышленные и племенные птицеводства Центрального и Северо-Западного регионов России. Нами была проанализирована ситуация более чем в 50 хозяйствах яичного направления. При обследовании птицеводств проводили тщательный анализ эпизоотологической обстановки, результатов патологоанатомического вскрытия павшей и вынужденно убитой птицы. Изучали и анализировали данные биохимических, токсикологических и бактериологических исследований. Одновременно учитывали условия содержания птицы и полноценность рационов.

В большинстве обследованных птицеводств предварительный диагноз подтверждали результатами лабораторного исследования сыворотки крови и желтка яиц, полученных от кур-несушек в различные периоды продуктивности и переболевания, сопровождающегося спадом яйценоскости и снесением дефектных яиц.

Исследования сыворотки крови и экстрактов желтка яиц с целью выявления антигеммагглютинирующих антител к вирусу ССЯ–76 проводили в РТГА, которую ставили общепринятым методом с 4 ГАЕ инактивированного антигена вируса ССЯ–76. Среднюю величину титра антител определяли по методу, предложенному Brugh.

Методику образования антител к вирусу ИБК определяли в ИФА, используя диагностические наборы и программное обеспечение НПП «АВИВАК». Проводили вирусологические исследования.

Экстракты из желтка куриных яиц готовили по предложенному нами ранее, но несколько усовершенствованному методу. При этом в каждом отдельном случае отбирали не менее 30 штук яиц в т.ч. 15–20 штук кондиционных, нормальных и 15–20 штук некондиционных (депигментированных, бесскорлупных, деформированных, «солнышко» или имеющих другие аномалии).

Результаты исследований и обсуждение

Инфекционный бронхит и синдром снижения яйценоскости у кур-несушек, как правило, протекают по типу латентной инфекции и потому клиническая картина болезни выражена незначительно. Характерных симптомов нет. В отдельных случаях у пораженных кур наблюдали диарею в течение 5–7 дней. На более поздних стадиях болезни отмечали синюшность гребня и сережек. Гибель птиц не превышала 1–3% среди взрослых несушек даже в пик болезни.

При патологоанатомическом вскрытии пораженной птицы отмечали изменения атрофического характера в яичнике и яйцеводе: уменьшение количества и размеров фолликулов, их деформацию и дегенерацию, кровоизлияния в соединительнотканной капсуле; яйцевод был несколько укорочен, стенка его истончена, но складчатость не нарушена. В слизистой оболочке яйцевода часто выявляли гиперемии и точечные кровоизлияния. Желточный перитонит регистрировали в 12–15% случаев. Печень была несколько увеличена и имела желтушную или полосчатую окраску. Желчный пузырь часто был увеличен и переполнен желчью светло-зеленого цвета.

Наиболее характерным, типичным признаком ассоциированной формы ИБК и ССЯ–76 являлся резкий спад яичной продуктивности кур-несушек и увеличение количества снесенных некондиционных яиц (рис. 1).

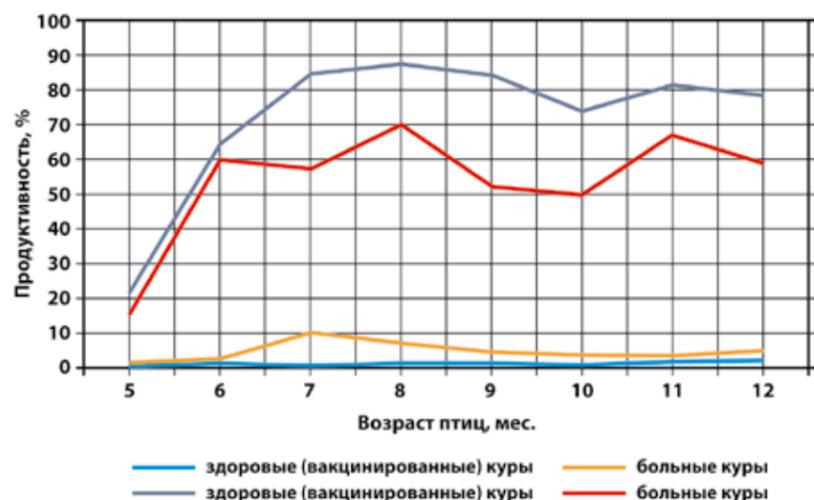


Рис. 1. Динамика яичной продуктивности кур при ассоциированном течении ИБК и ССЯ–76 - инфекции

На рис. 1 представлены данные яичной продуктивности и снесения некондиционных яиц у кур промышленного стада, пораженных ассоциированной инфекцией и не пораженных (вакцинированных). Из приведенных данных видно, что некондиционные яйца составляют значительный процент даже в промышленном стаде кур-несушек.

Важно отметить, также, что некондиционные яйца птица несет не только в период течения болезни, но и на протяжении длительного срока после переболевания смешанной инфекцией. Это является одним из принципиальных моментов, отличающих инфекцию от факторов незаразной этиологии, вызывающих спад яйценоскости и ухудшение качества скорлупы яиц, при которых процесс длится всего несколько дней, а затем восстанавливается, особенно при смене рациона.

Аналитические данные течения ассоциированной формы ИБК + ССЯ–76 - инфекции в ряде хозяйств показывают, что яичная продуктивность снижалась в среднем на 20–27%, а в отдельных случаях падала до 44–50%. При этом снижение яйценоскости протекало в определенной закономерности: весь период спада составлял 6–7 недель, из которых 4–5 недель приходилось непосредственно на спад, а 2–3 последующих недели – на период частичного восстановления продуктивности. При клеточном содержании несушек продуктивность в отдельных случаях восстанавливалась почти полностью или оставалась на 2–5% ниже исходной. При напольном содержании яйценоскость часто на 7–12% не достигала первоначальной, предшествующей периоду спада.

Дополнительно следует отметить, что в тех случаях, когда снижение яйценоскости наблюдали в начале пика яйцекладки, продуктивность несушек восстанавливалась почти полностью. Чем позже от момента выхода на пик яйцекладки проявлялось заболевание, тем глубже проявлялись периоды спада и реже наблюдали восстановление яичной продуктивности кур.

Важным диагностическим признаком, характерным для этой формы инфекции, являлось то, что внезапное снижение яйценоскости наступало у кур-несушек на пике яйцекладки в возрасте 170–260 дней и протекало в одном или двух–трех птичниках, заселенных птицей этого

возраста, а не по всему хозяйству в целом, вне зависимости от возраста несушек. Последнее бывает обычно связано со стрессовыми явлениями, нарушениями условий содержания и кормления птиц.

Снижение яичной продуктивности практически постоянно протекало при увеличении количества снесенных некондиционных яиц. Изменение качества яиц, полученных в период болезни, проявлялось в том, что больная птица в течение 6–8 недель несла яйца с истонченной и/или деформированной скорлупой, с кольцевыми и/или полосчатыми образованиями на поверхности скорлупы (рис. 2). Значительно увеличивалось количество бесскорлупных яиц, возрастал процент боя и насечки яиц. В пик болезни количество депигментированных и деформированных яиц достигало 12–18%, после чего постепенно уменьшалось. Среди собранных яиц в маточных стадах было 30–35% яйца дефектного, не пригодного для инкубации.

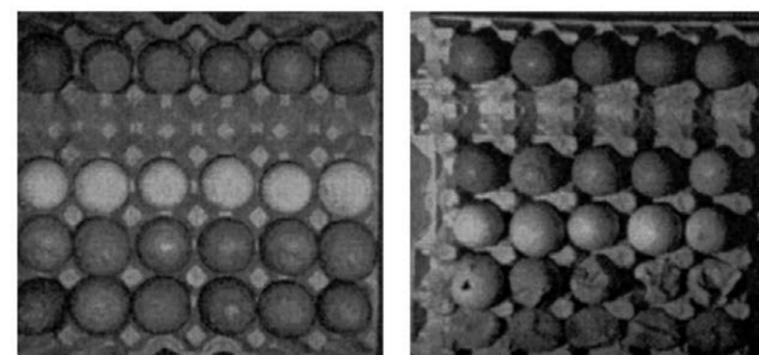


Рис. 2. Кондиционные и дефектные яйца при ассоциированной форме ИБК + ССЯ–76 - инфекции кур

Необходимо отметить, что депигментация скорлупы и получение яиц с тонкой скорлупой – первые наблюдаемые симптомы болезни. Обычно через 36–48 часов после этого отмечали резкое снижение яичной продуктивности в птичнике и значительное увеличение количества снесенных некондиционных яиц.

Изменение индекса цветности скорлупы яиц в период болезни наблюдали у несушек с коричнево окрашенным оперением. У кур с белым оперением отмечали изменения внутреннего содержимого яиц: белковая часть яйца часто была разжижена в виде локальных очагов или эти изменения носили диффузный характер.

Практически во всех случаях отмечали ухудшение инкубационных качеств яиц, полученных в период болезни. При этом снижалась оплодотворяемость яиц, выводимость и жизнеспособность цыплят.

Неудовлетворительные условия содержания и кормления птицы усугубляли течение инфекционного процесса в стаде.

Во всех наблюдаемых нами хозяйствах предварительный диагноз подтверждали результатами исследования сыворотки крови и желтков яиц, полученных от кур-несушек в различные периоды продуктивности.

В табл. 1 приведены результаты лабораторного исследования сыворотки крови кур-несушек из неблагополучного хозяйства. Птицепоголовье в этом хозяйстве было привито моновалентной инактивированной вакциной против ССЯ–76 в возрасте 110 дней. Против ИБК на молодняке цыплят была применена живая вирусвакцина из штамма Н–120. Заболевание птиц в хозяйстве возникло в возрасте 170 дней (птичник № 14) и в 210 дней (птичник № 6) и длилось 45–55 дней.



Таблица 1. Уровень антител к вирусу ИБК и ССЯ-76 в сыворотке крови кур при ассоциированном течении ИБК + ССЯ-76 - инфекции

Птица	Возраст: 7 месяцев (птичник № 14)		Возраст: 8 месяцев (птичник № 6)	
	Титр антител к вирусу:			
	ССЯ-76 (РТГА)	ИБК (ИФА)	ССЯ-76 (РТГА)	ИБК (ИФА)
1	2	3	4	5
1	256	688	256	1978
2	512	842	64	1359
3	128	1310	512	1643
4	4096	5799	512	3199
5	128	1427	8192	16228
6	16	5799	512	1804
7	8192	18754	4096	10540
8	256	993	256	2617
9	4096	16582	1024	6608
10	128	1226	64	621
11	1024	7149	2048	7272
12	32	2808	8192	29319
13	2048	3224	4096	12606
14	512	1041	256	3320
15	256	603	256	3771
16	8192	24295	128	484
17	256	1017	512	2108
18	2048	6309	1024	5476
19	256	881	512	1211
20	512	152	64	923
21	512	190	8192	18366
22	8192	19077	512	1493
23	4096	3605	8192	12409
Средний титр антител	1:630	1:5173	1:676	1:6082

Из приведенных данных видно, что уровень антител к вирусу ССЯ-76 и ИБК у несушек – неоднородный: 1:16–1:8192 (ССЯ-76) и 1:152–1:29319 (ИБК).

Анализ напряженности поствакцинального иммунитета у кур, привитых против ССЯ-76, показал, что уровень антител в титре 1:32–1:512 обеспечивал специфическую защиту поголовья несушек от проявления «полевой» инфекции.

На рис. 3 и 4 представлена динамика образования антител к вирусу ИБК и ССЯ-76 в сыворотке крови и желтках яиц здоровых (вакцинированных) и больных кур.

В результате проведенных исследований установлено, что у птиц выявляются антитела к вирусу ССЯ-76 и ИБК, как в сыворотках крови, так и в желтках яиц. При этом уровень значений титров антител у здоровых (вакцинированных) кур был сравнительно одинаковый в течение всего продуктивного периода.

Вместе с тем, было установлено, что уровень антител в желтках яиц, полученных от больных несушек, был значительно выше, чем уровень сывороточных антител от кур из этих



же птичников. И это вполне объяснимо, т.к. для исследований использовали дефектные яйца, полученные предположительно от больных несушек, а пробы крови брали общепринятым методом случайной выборки из разных мест птичника, что не исключало возможности ошибки и взятия крови от птиц, в различной степени пораженных инфекцией и даже от здоровых (вакцинированных).

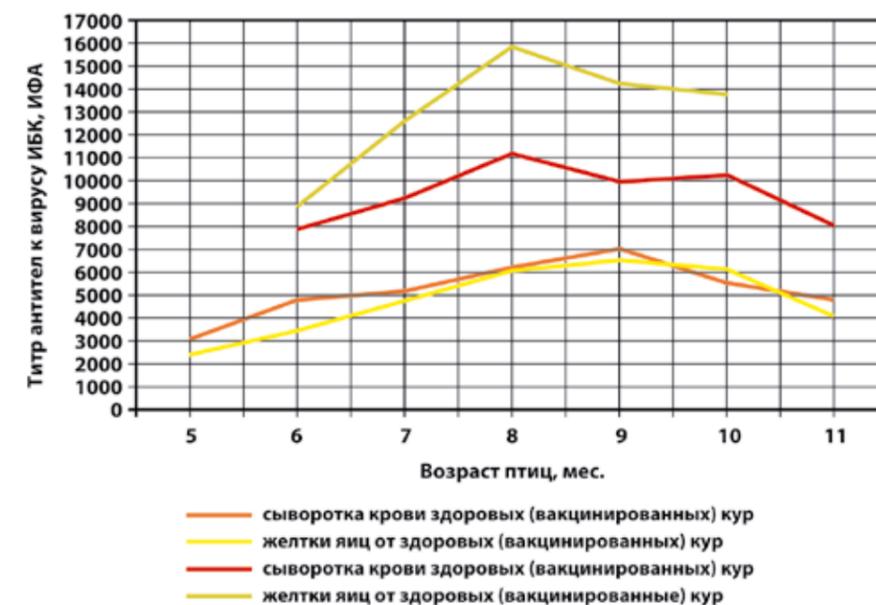


Рис. 3. Динамика образования антител к вирусу ИБК в сыворотке крови и желтках яиц здоровых и больных кур

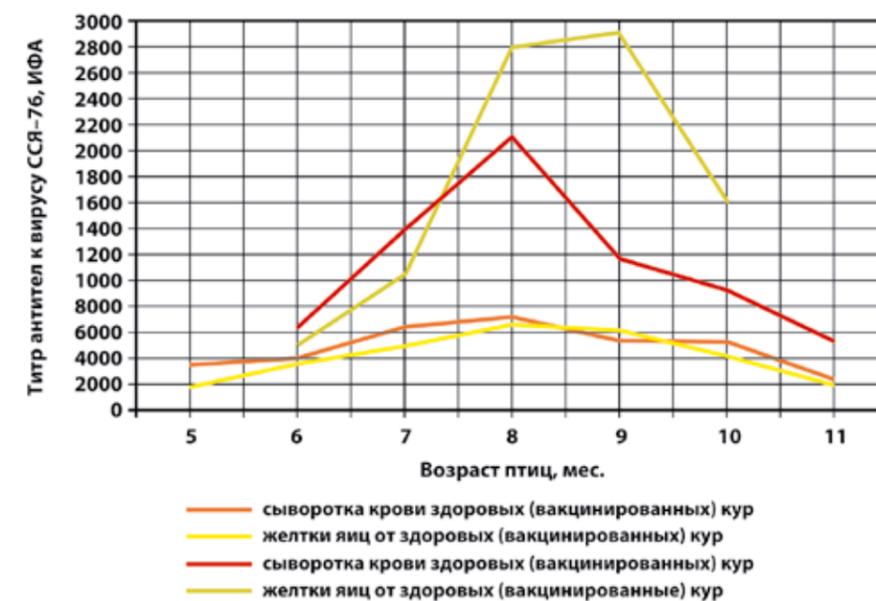


Рис. 4. Динамика образования антител к вирусу ССЯ-76 в сыворотке крови и желтках яиц здоровых и больных кур



Выявленная динамика антителообразования, как правило, корректировалась с динамикой яйценоскости, при этом начале спада продуктивности и появлению некондиционных яиц соответствовал сравнительно невысокий уровень сывороточных и желточных антител. При максимальном снижении яйценоскости и в период, когда количество некондиционных яиц было наибольшим, а также в течение последующих 30–45 дней антитела к вирусу ССЯ–76 и ИБК кур выявлялись в максимальных титрах. В последующий период, когда яйценоскость птиц начинала восстанавливаться и количество снесенных некондиционных яиц уменьшалось, отмечено постепенное снижение уровня антител. У переболевших птиц 300-дневного возраста антигеммагглютинины к вирусу ССЯ–76 выявлялись в сыворотке крови в титре 1:256–1:1024, в желтках дефектных яиц в титре 1:1280–1:2560. Уровень антител к вирусу ИБК у этих птиц составлял в сыворотке крови 1:9000–1:11000, в желтках дефектных яиц 1:13000–1:15000.

Результаты проведенных серологических исследований с целью выявления у больных птиц антител к вирусу НБ, ИЭМ и возбудителю респираторного микоплазмоза позволили исключить эти болезни из числа этиологических факторов, вызвавших нарушение яичной продуктивности у кур-несушек.

При анализе результатов биохимических и токсикологических исследований у птиц не было установлено болезней обмена, авитаминозов и токсикозов.

Таким образом, учитывая эпизоотологические данные, характерные спады яичной продуктивности, ухудшение качества скорлупы яиц и серологические показатели, нами было установлено ассоциированное течение ИБК и ССЯ–76 - инфекции у кур-несушек.

С целью профилактики ассоциированного течения ИБК и ССЯ–76 - инфекции были успешно использованы живая вирусвакцина против ИБК из штамма Н–120 и инактивированная вакцина «ИБК + ССЯ–76» или «ИБК + НБ + ССЯ–76» производства НПП «АВИВАК».

При этом вирусвакцину из штамма Н–120 применяли по общепринятой схеме двух- или трехкратно для иммунизации молодняка цыплят, а инактивированной эмульсионной вакциной прививали подросший молодняк при переводе в промзону или зону родительского стада. Следует отметить, что чем выше была напряженность иммунитета к моменту перевода птиц, тем эффективнее была прививка их инактивированной вакциной и в целом успешнее была вся схема вакцинации. Регистрируемые при этом титры антител имели не только высокие диагностические значения, но и были однородные. Это очень важный показатель при оценке эпизоотологического состояния хозяйства.

Комплексное применение живых и инактивированных вакцин для специфической профилактики ИБК и ССЯ–76 позволяло предупреждать ассоциированное течение этих болезней у птиц, а при плановом использовании их в системе противозооотических мероприятий обеспечивало благополучие хозяйств по этим весьма опасным инфекциям, и позволяло хозяйству избежать экономических потерь от снижения яичной продуктивности кур-несушек.

Заключение

Одной из возможных причин снижения яичной продуктивности кур-несушек, сопровождающееся ухудшением качества яиц может быть инфекционный бронхит и синдром снижения яйценоскости, протекающие в ассоциированной форме.

При диагностировании болезни важным является комплексный подход, основанный на данных эпизоотологического, клинического и патологоанатомического анализа, и главное, результатов лабораторных исследований. Последние имеют решающее значение.

В качестве материала для обнаружения антител к вирусу ИБК и ССЯ–76 может быть успешно использована не только сыворотка крови, но и желтки яиц. Исследование желтков некондиционных (обесцвеченных, бесскорлупных, деформированных) яиц в период их массового снесения гарантирует постановку диагноза на ИБК и ССЯ–76 в случае, если причиной болезни явились указанные вирусы.



Профилактику ассоциированного течения ИБК и ССЯ–76 - инфекции можно успешно осуществлять с помощью живых и инактивированных вакцин серии «АВИВАК» и строго выполнять ветеринарно-санитарные мероприятия и меры по улучшению содержания и кормления птицы.

Опыт применения вакцины «АВИВАК ИББ–АН» в лабораторных и производственных условиях

Соколов В. В.; Калинин А. Н.; Норкина С. Н. – НПП «АВИВАК»

Введение

Инфекционный бурсит птиц (болезнь Гамборо, ИББ, IBD) – высококонтагиозное иммуносупрессивное заболевание молодняка птиц отряда куриных, вызываемое вирусом семейства *Birnaviridae*.

Клетками-мишенями для вируса ИББ являются В-лимфоциты в сумке Фабрициуса – основном органе, отвечающем за иммунный статус молодой птицы. Воспаление сумки Фабрициуса приводит сначала к ее увеличению, а затем к атрофии. Следствием уменьшения в крови количества В-лимфоцитов является иммунодефицит.

У пораженной вирусом болезни Гамборо птицы отмечают вялость, слабость, отказ от корма, а также «белую диарею». К типичным патологическим изменениям при ИББ относят кровоизлияния и отеки в бурсе и мышечной ткани. Известно, что для данного заболевания свойственна динамика падежа, имеющая характерный пик. У переболевшей птицы отмечают иммуносупрессию, с более тяжелым ее проявлением при раннем инфицировании.

Болезнь Гамборо наносит огромный ущерб птицеводческой отрасли по всему миру. Основные составляющие контроля над распространением ИББ – соблюдение ветеринарно-санитарных норм, мониторинг «качества» птицы, а также применение эффективных вакцинных препаратов в сочетании с правильной техникой вакцинации. Вакцина против болезни Гамборо должна стимулировать иммунный ответ в присутствии материнских антител, в совокупности с высокой степенью приживляемости вакцинного вируса в организме привитой птицы. Важно, чтобы вакцинный вирус длительное время персистировал в организме цыпленка, стимулируя продолжительный иммунитет. В то же время, вакцинный препарат должен быть безопасным и стабильным, а метод применения – простым.

Для специфической профилактики ИББ применяют вакцины двух видов, инактивированные и живые. Живые вакцины по антигенной активности подразделяют на 3 группы:

- Высокоаттенуированные вакцины (мягкие)
- Среднеаттенуированные вакцины (промежуточные)
- Слабоаттенуированные вакцины (жесткие).

Целью данной работы была оценка эффективности вакцинного препарата «АВИВАК ИББ–АН», относящегося к классу «промежуточных» вакцин, в сравнении с вакциной «АВИВАК ИББ–М», относящейся к «мягким» вакцинам. Лабораторные исследования проводили на базе вивария НПП «АВИВАК». Производственные испытания проводили в условиях птицефабрики «Вельская» Архангельской области.

Результаты и обсуждения

Для проведения лабораторных и производственных испытаний использовали серию вакцины «АВИВАК ИББ–АН» с исходным титром 5,9 Ig ЭЛД₅₀/мл и серию вакцины «АВИВАК ИББ–М» с титром 7,0 Ig ТЦД₅₀/мл.

**Лабораторные испытания**

Для проведения лабораторных исследований было сформировано 3 группы цыплят яичного кросса «Хайсекс коричневый», по 10 голов в каждой группе. Первую группу использовали, как интактный отрицательный контроль, вторую группу иммунизировали вакциной «АВИВАК ИББ-АН» в дозе 2,2 Ig ЭЛД₅₀/0,2 мл. Третью группу вакцинировали вакциной «АВИВАК ИББ-М» дозой 4,0 Ig ТЦД₅₀/0,2 мл. Вакцинацию проводили двукратно, в возрасте 14 и 28 дней. Результаты учитывали через 14 дней после повторной иммунизации. Полученные экспериментальные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты вакцинации

Вакцина	Вес цыпленка, г	Би*	Титр АТ**
1	2	3	4
Контроль	553±61	6,1±0,8	193±86
«АВИВАК ИББ-АН»	458±20	1,66±0,5	19413±4650
«АВИВАК ИББ-М»	468±51	2,53±0,4	8343±1374

* Би (бурсальный индекс) – представляет собой отношение массы бursы цыпленка к массе его тела. О приживляемости вакцинного вируса свидетельствует уменьшение Би в 2 и более раз, относительно контрольной группы.

** Титр АТ (антител) при применении ИФА-наборов производства НПП «АВИВАК», считали положительными, при значении титра антител выше 1667.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что применение вакцин «АВИВАК ИББ-АН» и «АВИВАК ИББ-М» вызывало индукцию стабильно высокого уровня антител через 14 дней после повторной вакцинации, а изменение бурсального индекса испытываемых птиц, относительно контрольной группы, свидетельствуют о высоком уровне приживляемости вакцинного вируса в организме привитых цыплят. Однако, применение вакцины «АВИВАК ИББ-АН», вызывало увеличение значений протективного уровня антител, относительно вакцины «АВИВАК ИББ-М», более чем в 2 раза.

Производственные испытания

Опыт проводили на птице яичного кросса «Хайсекс коричневый». Было скомплектовано 2 корпуса птицы одного возраста. Опытный корпус, в количестве 63050 голов прививали вакциной «АВИВАК ИББ-АН» двукратно, в возрасте 10 и 17 суток, контрольный, в количестве 62196 голов – по аналогичной схеме, вакциной «АВИВАК ИББ-М».

Эффективность вакцинопрофилактики оценивали, начиная с 18-го дня после повторной иммунизации по эпизоотическим данным, динамике и уровню сероконверсии и основным производственным показателям.

Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Эффективность вакцинопрофилактики

Вакцина	Сохранность, (%)	Живая масса, (г)		Однородность, (%)		Титр АТ / коэффициент вариации, (%)			
		7 недель	8 недель	7 недель	8 недель	5 недель	6 недель	7 недель	8 недель
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
«АВИВАК ИББ-АН»	99,3	440	650	76	83	4388/40	12862/25	16320/15	16830/12
«АВИВАК ИББ-М»	99,0	427	589	70	79	1320/50	4858/35	11090/28	11386/30

**НПП «АВИВАК»****гарантия здоровья
Вашей птицы****АВИВАК-ИББ-АН**

**ВАКЦИНА ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ
БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПТИЦ
ИЗ ШТАММА «ВИНТЕРФИЛД»
НИЗКОЙ СТЕПЕНИ АТТЕНУАЦИИ
ЖИВАЯ, СУХАЯ**

188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
Тел.: (812) 346-58-54, 346-58-53
Факс: (812) 703-11-52
E-mail: AVIVAC@sovintel.ru

105120, Москва,
3-й Сыромятнинский пер., д. 3/9
Тел.: (495) 785-18-01 (многоканальный)
E-mail: AVIVAC@list.ru

WWW.AVIVAC.COM

ООО «ЦЕНТР
ВЕТЕРИНАРНОГО
ОБЕСПЕЧЕНИЯ»

Принцип работы ЦВО –
Надёжность, темпы, качество!
Как результат – важней всего
Успехи у Заказчика!



Как видно из табл. 2, в опытном корпусе, привитом вакциной «АВИВАК ИББ–АН», значения сохранности и уровня поствакцинального гуморального иммунитета ожидаемо превышают результаты, полученные при применении вакцины «АВИВАК ИББ–М», вследствие разной антигенной активности испытуемых препаратов. Показатели однородности и коэффициентов вариации, при учете динамики сероконверсии, свидетельствуют о более значительных колебаниях данных, в корпусе, иммунизированном вакциной «АВИВАК ИББ–М». Средняя живая масса птицы опытного корпуса превышала среднюю массу птицы контрольного корпуса в 7 недель – на 13 грамм, в 8 недель – на 61 грамм.

Проведя анализ производственных испытаний, можно сделать вывод, что применение вакцины «АВИВАК ИББ–АН» в условиях птицефабрики «Вельская» Архангельской области, по сравнению с применением вакцины «АВИВАК ИББ–М», наряду с индукцией высокого уровня специфических антител, не снижало производственных показателей хозяйства.

Экспериментальные и производственные испытания вакцины «АВИВАК–ИЛТ»

Панкратов С. В.; Крон Н. В.; Гаврилов С. Н.; Кононенко Е. В. – НПП «АВИВАК»

Введение

Инфекционный ларинготрахеит (ИЛТ) – вирусная контагиозная респираторная болезнь, характеризующаяся поражением слизистых оболочек гортани, трахеи, реже, носовой полости и конъюнктивы. Заболевание широко распространено в Европе, Юго-Восточной Азии, Австралии, Северной и Южной Америке. Вспышки ИЛТ наиболее часто регистрируют в регионах с интенсивным ведением птицеводства и высокой концентрацией птицы на ограниченной площади.

Возбудитель относится к роду альфагерпесвирусов, вызывающих латентную инфекцию. Латентное течение болезни позволяет вирусу ИЛТ практически пожизненно циркулировать в организме зараженной птицы, что значительно усложняет меры борьбы с инфекцией. Однажды попав в хозяйство, она приобретает стационарный характер. Экономике хозяйства болезнь может приносить существенные убытки, которые складываются из потерь от недополучения яичной продукции и мяса, выбытия птиц и затрат на проведение противоэпизоотических мероприятий.

К заболеванию восприимчивы куры разных возрастных групп, но наиболее подвержены цыплята 1–2-месячного возраста.

Заражение птицы вирусом ИЛТ происходит через верхние дыхательные пути или слизистые оболочки глаз. Источником инфекции является клинически больная и переболевшая птицы. Также возможен механический перенос возбудителя на одежде персонала птицеферм, предметах ухода, с кормами.

Течение болезни бывает сверхострое, острое, подострое и хроническое. Характерными клиническими признаками являются: кашель, хрипящие и свистящие звуки, дыхание с открытым клювом и конъюнктивиты. При патологоанатомическом вскрытии обнаруживают поражения слизистых оболочек гортани, трахеи, реже носовой полости.

Предварительный диагноз на ИЛТ ставят на основании клинических признаков и патологоанатомических данных. Для дифференциации ИЛТ от других респираторных заболеваний и постановки окончательного диагноза пользуются лабораторными методами диагностики, позволяющими выявлять патоморфологические изменения (в т. ч. тельца-включения в эпителиальных клетках респираторного тракта), обнаруживать возбудителя (изоляция в куриных



эмбрионах и культуре клеток, а также в ПЦР и с помощью электронной микроскопии) и сероконверсию к нему птицы (в реакциях диффузионной преципитации, нейтрализации, непрямой иммунофлюоресценции, а также иммуноферментном анализе).

Меры борьбы с ИЛТ являются комплексными: комплектация птицепоголовья из благополучного хозяйства-репродуктора, тщательная дезинфекция поступающих инкубационных яиц в инкубатории, соблюдение ветеринарно-санитарных правил при выращивании птицы, минимизация технологических стрессов, химиофилактика бактериальных болезней, в первую очередь, колибактериоза и респираторного микоплазмоза.

Инфекция вируса ИЛТ распространяется быстро, охватывая различные возрастные группы птиц, поэтому условно-здоровую часть птицепоголовья неблагополучных хозяйств или птицеферм, имевшую контакт с больной птицей, с высокой степенью вероятности заноса возбудителя, вакцинируют с профилактической целью.

Для специфической профилактики ИЛТ широко применяют 2 варианта живых вакцин – эмбриональные и культуральные. Эмбриональные вакцины отличаются высокой степенью иммуногенности, но в отличие от культуральных достаточно реактогенны. Многократное пассирование штаммов ИЛТ в культурах клеток обеспечивает большую степень их аттенуации, чем использование с этой целью куриных эмбрионов. Как следствие, культуральные вакцины менее иммуногенны, но реже дают поствакцинальные осложнения (снижение привесов, и яичной продуктивности, в отдельных случаях развитие клинической формы болезни и гибель привитой птицы). Частота возникновения таких побочных эффектов у птицы, привитой разными живыми вакцинами, неодинакова, что обусловлено биологическими свойствами штаммов ИЛТ, из которых их изготавливают, а также уровнем их аттенуации.

В 2006 г. в НПП «АВИВАК» путем модификации вакцинного штамма «ВНИИБП» пережающимися пассажами в клеточной культуре и на СПФ-эмбрионах кур получен штамм, в котором устранены недостатки исходного биопрепарата. Преимуществом является и то, что в утвержденной Россельхознадзором инструкции (от 19. 06. 2006 г.) по применению вакцины против инфекционного ларинготрахеита птиц живой сухой «АВИВАК–ИЛТ» разрешается оценивать результаты иммунизации по титру антител в сыворотках крови методом ИФА, и он должен быть не ниже двукратного минимального положительного значения, предусмотренного в инструкции по применению конкретного диагностического набора.

Специалистами НПП «АВИВАК» были проведены исследования по определению реактогенности и антигенной активности живой сухой вакцины против инфекционного ларинготрахеита птиц «АВИВАК–ИЛТ», серии №3, инфекционной активностью $5,8 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, изготовленной 06.2008 г., а также проведен анализ результатов применения ее в птицеводствах с различной технологической направленностью.

Материалы и методы исследований

Определение реактогенности и антигенной активности вакцины проводили на цыплятах 30-дневного возраста, полученных из фермерского хозяйства благополучного по инфекционным болезням птиц, в котором не проводится вакцинация против ИЛТ.

Для определения реактогенности вакцины было сформировано две группы цыплят по 10 голов в каждой. Цыплятам 1-й группы вакцину вводили с помощью глазной пипетки интраокулярно (в один глаз) в дозе $10000 \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ и объеме $0,1 \text{ см}^3$ однократно, которая в 10 раз превышала иммунизирующую, 2-й группы – аналогично физиологический раствор. За вакцинированной птицей вели наблюдение в течение 20 дней, после чего провели эвтаназию, вскрытие и оценку состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей, воздухоносных мешков и легких.

Для определения антигенной активности было сформировано также две группы цыплят, по 10 голов в каждой. Цыплятам первой группы вводили вакцину, разбавленную фосфатно-



буферным раствором, в дозе $1000 \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ и объеме $0,1 \text{ см}^3$ интраокулярно (в один глаз), однократно; а второй группе – аналогично только физиологический раствор.

Сыворотку крови от птиц брали непосредственно перед вакцинацией и через месяц после вакцинации. Титры антител к вирусу ИЛТ определяли методом иммуноферментного анализа тест-системой «BioChek».

Результаты исследований

Изготовленная живая сухая вакцина «АВИВАК–ИЛТ», серии №3 от 06. 2008 г. прошла все необходимые контроли на формирование таблетки, влажность, растворимость, стерильность и инфекционную активность.

Клинические наблюдения, которые проводили за подопытной птицей в указанные сроки, не выявили у нее отклонений по сравнению с птицей в интактном контроле. При патологоанатомическом вскрытии у цыплят подопытной группы не обнаружено видимых изменений на слизистой оболочке носовых раковин, надгортанника, трахеи, бронхов, воздухоносных мешков и альвеол, легких, характерных для инфекционного ларинготрахеита. Физиологическое развитие цыплят соответствовало таковому в контрольной группе.

Результаты исследования антигенной активности вакцины показали, что среднее значение титров антител в сыворотках крови цыплят к вирусу ИЛТ через один месяц после вакцинации составило в разведении 1:3455 (1898–5095), а в контрольной группе они вообще отсутствовали. Таким образом, среднее значение титров антител у всех цыплят вакцинированной группы было значительно выше показателя 1:1071, который является положительным в тест-системе «BioChek» и указывает на то, что все иммунизированные цыплята приобрели высокий уровень гуморального иммунитета.

Полученный в эксперименте результат определения антигенной активности вакцины «АВИВАК–ИЛТ» является свидетельством того, что вакцина вызывает у цыплят формирование протективного уровня сывороточных антител. Оценка их защитных свойств не всегда однозначна. Большинство исследователей считают, что на основании данных ИФА можно опосредованно оценивать контроль производственных серий вакцины и прогнозировать напряженность иммунитета у вакцинированной птицы как в экспериментальных исследованиях, так и в условиях хозяйств. По другим данным результаты ИФА не коррелирует с защитой, так как при ИЛТ важен клеточный иммунитет.

С 2008 г. вакцина «АВИВАК–ИЛТ» успешно применяется в ряде хозяйств яичного и мясного направлений в различных регионах страны. По данным серологических исследований, проведенных в НПП «АВИВАК», напряженность гуморального иммунитета у привитых птиц колеблется в диапазоне от 85% до 100%.

Заключение

Живая сухая вакцина против инфекционного ларинготрахеита птиц «АВИВАК–ИЛТ», примененная интраокулярно в дозе $10000 \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ и объеме $0,1 \text{ см}^3$ однократно, является ареактогенной, и в иммунизирующей дозе $1000 \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ вызывает через месяц после вакцинации 100% иммунитет. Применение вакцины «АВИВАК–ИЛТ» в хозяйствах различной технологической направленности способно обеспечить достаточно высокую специфическую защиту от полевого возбудителя ИЛТ.

Инактивированная эмульсионная вакцина против аденовирусного гепатита с включениями – гидроперикардита птиц

Панкратов С. В.; Придыбайло Н. Д.; Крон Н. В. – НПП «АВИВАК»

Более 20 лет прошло с того времени, когда в Пакистане вблизи городов Карачи и Лахор, где сконцентрировано крупное бройлерное производство, возникла новая болезнь. Она проявлялась чаще всего у бройлеров в возрасте 3–5 недель, но случаи заражения были также и в стадах ремонтного молодняка. При этом признаки болезни были следующие: вялость, скученность, взъерошенность оперения, желтоватая слизь в помете и падеж птицы в первые дни до 20%, а в последующий период он мог возрастать до 70–80%. На вскрытии наблюдали скопление прозрачного транссудата в перикардиальной полости, очаги некроза в печени в виде сероватых пятен, перемежающиеся с кровоизлияниями.

Гистологическим методом выявляли базофильные и эозинофильные внутриядерные тельца-включения в гепатоцитах и дегенеративные изменения в тканях поджелудочной железы, почек и миокарда. Вскоре был идентифицирован возбудитель – аденовирус 1 группы (в основном серотипы 4 и 8), который выделяли в культуре клеток печени эмбриона, из самого эмбриона и от цыплят. По наличию телец-включений в печеночных клетках и жидкости перикардиальной полости, болезнь получила название аденовирусный гепатит с включениями – гидроперикардит (синдром гидроперикардита, синдром гидроперикардита кур). Следует отметить, что в этиологии заболевания важная роль отводится иммуносупрессивным инфекциям – инфекционной бурсальной болезни и инфекционной анемии.

В странах, где синдром гидроперикардита кур регистрируется наиболее часто (Пакистан, Индия, Мексика, Чили, РФ и др.), он наносит значительный экономический ущерб. Поэтому для профилактики болезни следует соблюдать, как общие ветеринарно-санитарные мероприятия, так и проводить специфическую профилактику.

В РФ зарегистрированы два биопрепарата: вакцина против синдрома гидроперикардита кур инактивированная сорбированная, производства ФГУ «ВНИИЗЖ», и вакцина жидкая инактивированная против аденовирусного гепатита с включениями гидроперикардита кур из штамма «Т-12», производства ВНИВИП. Однако регистрируемый уровень синдрома гидроперикардита в РФ (2,9% от инфекционных болезней) требует более широкого внедрения уже известных вакцин и создания новых.

Целью нашей работы было изготовление и испытание в эксперименте вакцины инактивированной эмульсионной против синдрома гидроперикардита кур.

В одном из птицеводств РФ, где имело место данное заболевание, был отобран материал от павших птиц с характерными патологоанатомическими признаками, выделен изолят вируса и получена его производственная раскладка.

В качестве биологической модели для накопления производственного штамма вируса использовали цыплят-бройлеров в возрасте 15, 20 и 30 суток, серонегативных по данной инфекции. Их заражали вирусосодержащим материалом, в объеме 0,5 см³ в мышцу бедра. От павших птиц, с соблюдением всех правил асептики и антисептики, получали печень, которую гомогенизировали с последующим центрифугированием. После центрифугирования надосадочную жидкость сливали и инактивировали. Антиген контролировали на полноту инактивации, активность в РДП и стерильность, после чего на его основе были изготовлены опытные серии инактивированных эмульсионных вакцин.

В результате лабораторных испытаний оптимальной оказалась вакцина, изготовленная на основе масляного адьюванта ISA-70. Полученная эмульсионная вакцина по внешнему виду

представляет собой однородную эмульсию белого цвета, стерильную, с вязкостью 31 мм²/с, определенной с помощью вискозиметра ВПЖ-2 по ГФ XI вып., стр. 87 и стабильностью 3,0 мм, определенной центрифугированием вакцины при 4000 об/мин в течение 30 минут.

Безвредность вакцины проверяли на цыплятах 14- и 50-суточного возраста, которых вакцинировали в область нижней трети шеи, подкожно, в объеме 2,0 см³. Срок наблюдения – 15 дней. Клинические признаки какой-либо патологии в течение всего периода исследований не отмечались. При вскрытии трупов птиц, вынужденно убитых по завершении опыта, установлено, что в месте введения вакцины не было признаков воспалительной реакции, значительная часть вакцины рассосалась и видна лишь в виде единичных вкраплений размером 0,1–1,0 мм под кожей шеи и в области зоба.

С целью определения антигенной и иммуногенной активности вакцины, было сформировано две группы цыплят-бройлеров 14-суточного возраста, серонегативных к синдрому гидроперикардита кур. Цыплят первой группы иммунизировали эмульсионной вакциной подкожно в область нижней трети шеи в объеме 0,5 см³ на голову, однократно. Вторая группа была интактным контролем. Через 15 дней после вакцинации для определения иммуногенной активности вакцины было взято от первой и второй группы по 50% птицы, остальные цыплята остались для определения антигенной активности вакцины.

Антигенные свойства опытной серии вакцины оценивали по наличию антител в РДП, а иммуногенность – при контрольном заражении подопытной группы птиц патогенным изолятом вируса.

Вирусреципитирующие антитела в РДП были установлены в сыворотке крови в титре 1:8–1:16 у 80% вакцинированных цыплят на 21 сутки и у 100% – на 28 сутки после иммунизации. Контрольное внутримышечное заражение патогенным штаммом аденовируса в дозе, составляющей LD50 на цыпленка через 15 дней после иммунизации, показало, что смертность и клиническое проявление болезни у вакцинированных цыплят отсутствовали, а в группе контрольных невакцинированных цыплят клинические признаки болезни отмечались в 90% случаев и смертность составила 43%. При патологоанатомическом и гистологическом исследовании павших цыплят были обнаружены характерные признаки: транссудат в перикардиальной полости (рис. 1) и базофильные тельца-включения в клетках печени (рис. 2).

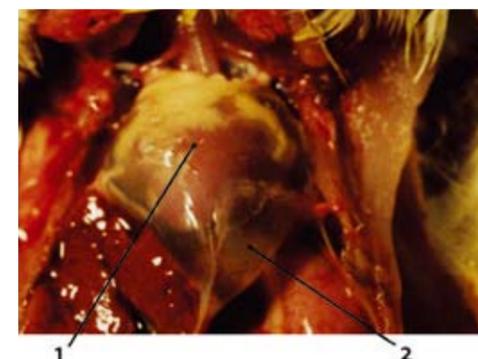


Рис. 1. Транссудат в перикардиальной полости цыплят, экспериментально зараженных АДВГГ:

1 – сердце; 2 – транссудат

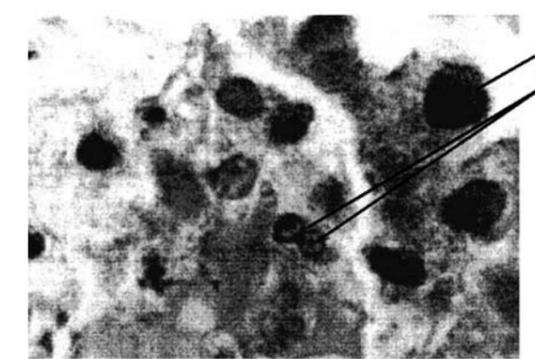


Рис. 2. Базофильные включения в гепатоцитах цыплят, экспериментально зараженных АДВГГ:

1 – базофильное включение; 2 – не содержащие виропласт ядра гепатоцитов

Таким образом, разработанная в НПП «АВИВАК» инактивированная эмульсионная вакцина против аденовирусного гепатита безвредна для птиц и обладает высокими антигенными и иммуногенными свойствами.



Вакцина против оспы птиц

Николаева И. П.; Калинин А. Н. – НПП «АВИВАК»

Оспа птиц – контагиозное вирусное заболевание. Регистрируется во многих странах мира, в том числе Российской Федерации, и вспышки ее причиняют большой экономический ущерб птицеводческим хозяйствам.

Распространение и стационарность оспы обусловлены длительной (до 2 лет) сохраняемостью вируса в организме птичьих эктопаразитов и переболевших кур и высокой устойчивостью самого возбудителя.

В связи с этим в борьбе с заболеванием большое значение имеет создание у птицы напряженного долгосрочного иммунитета. Применяемые в нашей стране коммерческие вакцины, изготавливаемые из штамма «Нью-Джерси» вируса оспы голубей и аттенуированного штамма 27-АШ, обеспечивают иммунитет на короткое время. Ставропольская биофабрика, выпускающая вакцину против оспы птиц, по экономическим причинам прекратила производство вакцины. Вакцина готовилась в культуре клеток куриной эмбриональной кожи (ЭКК) из вируса оспы кур штамм «К».

Выход клеток кожи эмбриона (10–11-дневного) очень мал.

В связи с этим нами была предпринята попытка возобновить производство вакцины против оспы кур и сделать ее более рентабельной.

Для создания такой вакцины мы использовали аттенуированный культуральный штамм «К» вируса оспы кур, из которого ранее готовилась вакцина в ВГНКИ.

Материалы и методы исследований

Культуры клеток

В работе использовали первичную культуру клеток куриных фибробластов (КФ) и культуру клеток кожи эмбриона (КЭК), которые готовили из 10–12-дневных СПФ эмбрионов общепринятыми методами. Выращивание монослоя и заражение его вирусом проводили в 5-ти литровых роллерных бутылках и на 1,5 л матрасах.

В процессе культивирования КЭК и КФ изучали влияние посевной концентрации клеток на формирование монослоя, зависимость активности вакцины от качества монослоя, влияние процентной концентрации сыворотки в ростовой среде, заражающую дозу вируса, сроки созревания и съема вируса.

Питательные среды

Использовали стандартные культуральные питательные среды «ИГЛА» и «199» на растворе Хенкса или Эрла, полученные из НПП «Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. Чумакова».

Цыплята

Суточные, 7-, 15-, 70- и 200 дневные из хозяйств благополучных по оспе, микоплазмозу и др. вирусным и бактериальным заболеваниям.

Вирусы

В работе использовали аттенуированный культуральный штамм «К» вируса оспы кур и вирулентный штамм «Кучинский».

Жизнеспособность и стабильность вакцинного штамма «К» поддерживали путем периодического культивирования в культуре клеток куриных эмбрионов с последующей проверкой на инфекционную и иммуногенную активность и чистоту. Инфекционную активность прове-



ряли путем титрования в культуре клеток или на 2-х месячных цыплятах. Титр вируса должен быть соответственно не ниже $6,8-7,0 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ и $3 \text{ Ig ИД}_{50}/0,015 \text{ см}^3$. Контроль на стерильность проводили общепринятыми посевами на твердые и жидкие питательные среды.

В процессе работы изучали безвредность, реактогенность и иммуногенную активность вируса оспы кур штамма «К».

Результаты исследований

В результате проведенной работы нами были получены данные свидетельствующие о том, что культура клеток куриных фибробластов вполне пригодна для получения антигена вируса оспы кур. Так, при заражении 24-часовой культуры КЭФ в дозе $1,98 \text{ ТЦД}/50$ на клетку ЦПД проявлялось на 4–5 день. При больших заражающих дозах наблюдалось сокращение срока наступления ЦПД и снижения титра вируса. Степень накопления вируса оспы при титрации в культуре клеток КЭФ составила $6,0-7,0 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{мл}$. Средний титр вируса на 200 суточных цыплятах колебался в пределах $3,0-4,0 \text{ Ig ИД}_{50}/0,015 \text{ мл}$.

Результаты изучения влияния процентной концентрации сыворотки на репродукцию и наполнение вируса показали, что добавление сыворотки в поддерживающую среду даже 1% влияет на репродукцию вируса.

Оптимальной посевной концентрацией клеток на 5-ти литровую роллерную бутылку является $1,5 \text{ млн}/\text{мл}$. Монослой формируется через 18–24 часа и выход вируса равняется $6,0-7,0 \text{ Ig}$.

Реактогенность культурального штамма «К» испытывали в эксперименте на 70-дневной птице. При введении вируса оспы 70-суточным цыплятам путем прокола перепонки крыла местную реакцию отмечали на 5–7 день (образование оспин на месте укола, отек и покраснение прилегающей ткани), а спустя 14–28 дней она затухала.

Для проверки на безвредность вирус оспы в дозе $1000 \text{ ИД}_{50}/0,015 \text{ мл}$ вводили цыплятам внутривенно методом укола в перепонку крыла. Цыплята находились под наблюдением 21 день со дня введения вируса. У всех цыплят проявлялась местная положительная реакция (узелки, оспины на месте укола) которая к 28–30 дням наблюдения полностью исчезала, что указывало на безвредность вакцины.

Для контроля иммуногенной активности вируса оспы использовали суточных, 7- и 15-дневных цыплят. Вирус вводили внутривенно методом укола в перепонку крыла специальным 2-игольным инъектором. Через 21 день после иммунизации цыплят заражали вирулентным штаммом «Кучинский» вируса оспы кур. Контрольных цыплят заражали вирулентным вирусом. Аналогичным методом в другое крыло в дозе $100 \text{ ИД}_{50}/0,015 \text{ мл}$. В результате проведенных опытов было установлено, что 100% иммунитет формировался на 7-й день у цыплят, привитых в суточном возрасте. У цыплят же, привитых в возрасте 7 и 15 суток иммунитет формировался лишь на 15-й день после вакцинации.

При изучении продолжительности иммунитета было установлено, что цыплята, вакцинированные в суточном возрасте, сохраняют напряженность иммунитета к оспе птиц до 5–7 месяцев после вакцинации.

На основании проведенной научно-исследовательской работы нами были наработаны экспериментальные образцы вакцины против оспы птиц и проведены ее испытания.

Вирус оспы птиц штамм «К» нарабатывали в культуре клеток куриных фибробластов, которые выращивали в 5-ти литровых пластиковых роллерных бутылках.

Посевная концентрация клеток составила $1,5 \text{ млн}/\text{мл}$. Заряжающая доза вируса равна $1,9 \text{ ТЦД}/50$ на клетку. Время культивирования вируса было 4–5 суток. Затем вирус сливался в одну емкость, отбирались образцы для контроля на инфекционную активность и стерильность и до лиофильной сушки вирус хранился при -40°C . Прошедшие контроль серии вируса подвергались лиофильному высушиванию с добавлением защитной среды на основе



декстрана. Защитная среда добавлялась в соотношении 2:1. При этом установлено, что степень инактивации вируса в процессе лиофилизации не зависела от соотношения защитной среды и составляла 0,4–0,6 Ig.

Проведенные испытания экспериментальных образцов вакцины против оспы птиц показали, что вакцина безвредна и не вызывала у привитой птицы поствакцинальных осложнений. Клинических проявлений болезни у вакцинированной птицы не наблюдалось.

Изучение иммуногенной активности вакцины против оспы птиц проводили на цыплятах суточных, 5-, 7-, 15- и 70-дневного возраста. Реакция на введение вакцины появлялась на 7-й день после иммунизации и характеризовалась образованием оспин на наружной и внутренней поверхностях перепонки крыла в месте укола. Оспины исчезали через 28–30 дней. Профилактическая эффективность ее при однократном введении 70-дневным цыплятам методом прокола перепонки крыла составляла 80–100% в течение 7–9 месяцев.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование данной вакцины сокращает число прививок, уменьшает объем вакцины и трудозатраты при иммунизации по сравнению с эмбриональной вакциной. Необходимо отметить преимущества технологического процесса изготовления культуральной вакцины, которые заключаются в сокращении труда, используемого сырья и повышении ее качества.

Таким образом, в результате проведенных исследований по изучению культуральных свойств вакцинного вируса из штамма «К» при культивировании его на различных питательных средах (КЭК, КФ), а также иммуногенности и реактогенности было установлено:

1. Высокая технологичность при наработке антигена на культурах клеток КФ в сравнении с КЭК. Использование культуры клеток КФ дает возможность повысить титр вакцинного вируса и снизить затраты при производстве вакцины.

2. Вакцина из штамма «К», полученная при культивировании на культуре клеток КФ имеет достаточно высокую степень иммуногенности. По результатам проведенных исследований у однократно вакцинированной птицы иммунитет формируется у 80–100% птицепоголовья на 6–7 день после иммунизации, который сохраняется в течение 9 месяцев.

3. Вакцина не вызывает выраженной местной поствакцинальной реакции и безвредна для птицы.

Эффективность ассоциированных вакцин против вирусных и микоплазменных инфекций

Рождественская Т. Н., к. в. н.; Панкратов С. В.; Белкин В. А., к. в. н.; Гаврилов С. Н. – НПП «АВИВАК»

Введение

Профилактика бактериальных и микоплазменных инфекций является одним из ключевых моментов в обеспечении эпизоотического благополучия птицеводств. Для защиты птицепоголовья используют широкий спектр ветеринарных препаратов. НПП «АВИВАК» разработана и успешно применяется в птицеводствах инактивированная эмульсионная вакцина против респираторного микоплазмоза птиц «АВИВАК-PM».

В практике очень важно сочетать правильное составление индивидуальной для каждого хозяйства программы вакцинаций, с сокращением количества профилактических обработок птицы. Основным средством достижения этого является использование ассоциированных вакцин, в состав которых входят вирусные, бактериальные и микоплазменные антигены. Однако известно, что при использовании поливалентных вакцин антигенная активность некоторых компонентов часто снижается по сравнению с моновариантными формами вакцин.



Задачей наших исследований являлась разработка и испытание ассоциированных вакцин против реовирусной инфекции (РЕО) и *M. gallisepticum*, а также против инфекционного бронхита кур (ИБК), ньюкаслской болезни (НБ), синдрома снижения яйценоскости – 76 (ССЯ–76) и *M. gallisepticum*.

Материалы и методы

В работе использовали: *M. gallisepticum* штамм «S₆» и вирусы РЕО штамм «1733», НБ штамм «Ла–Сота», ИБК штамм «Чапаевский» и ССЯ–76 штамм «В8/78».

Инактивацию биологического материала проводили препаратом «А–24» или формалином и образцы антигенов эмульгировали с масляным адьювантом ISA–70 в соотношении 1:2 на лабораторном диспергаторе «Magic Lab».

Для исследования реактогенности и антигенной активности вакцин использовали цыплят кросса «ЛОМАНН–БРАУН» 50-суточного возраста.

Было сконструировано 2 варианта экспериментальных инактивированных эмульсионных вакцин:

- против реовирусной инфекции и респираторного микоплазмоза – «РЕО + PM»;
- против инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, синдрома снижения яйценоскости и респираторного микоплазмоза – «ИБК + НБ + ССЯ–76 + PM».

В качестве контрольных препаратов готовили моновалентные образцы вакцин против респираторного микоплазмоза (PM) и реовирусной инфекции (РЕО), причем конечная концентрация антигенов PM и РЕО была одинаковой как в экспериментальных, так и в опытных препаратах.

Все образцы были испытаны на стерильность, стабильность, вязкость эмульсии, реактогенность и антигенную активность.

Стерильность определяли согласно ГОСТ 28085, стабильность центрифугированием пробы вакцины при 4000 об/мин в течение 30 минут, а вязкость с помощью вискозиметра ВПЖ–2 по ГФ XI стр. 87.

Реактогенность вакцины определяли клинически, наблюдением за птицей после вакцинации и патологоанатомическим данным при контрольном убое птицы. С этой целью было сформировано четыре группы цыплят по 10 голов в каждой. Вакцины вводили подкожно в область нижней трети шеи в объеме 2,0 см³. Срок наблюдения составил 12 дней.

Для определения антигенной активности было сформировано 5 групп цыплят. Птица первой группы была иммунизирована вакциной «PM», второй группы – вакциной «РЕО» и третьей – вакциной «РЕО + PM», двукратно с интервалом 45 дней. Цыплят четвертой группы первый раз иммунизировали вакциной «PM», второй через 45 дней вакциной «ИБК + НБ + ССЯ–76 + PM». Вакцина во всех случаях вводилась в объеме 0,5 см³, подкожно в область нижней трети шеи. Пятую группу цыплят не вакцинировали (интактный контроль). Сыворотку крови от птиц получали в следующие сроки: за сутки до и через 1 месяц после первой иммунизации; за сутки до и через 1 и 2 месяца после второй иммунизации. Титр антител к вирусам НБ и ССЯ–76 определяли в РТГА по общепринятой методике, а к вирусам ИБК, РЕО и *M. gallisepticum* иммуноферментным анализом (ИФА), с использованием тест систем производства НПП «АВИВАК» и «БиоЧек». За положительный результат принимали минимальный титр антител к НБ – 4 log₂, ССЯ–76 – 5 log₂, ИБК – 1:834, РЕО – 1:1899 и *M. gallisepticum* – 1:1029.

Результаты и обсуждение

Приготовленные инактивированные эмульсионные вакцины представляли однородную эмульсию белого цвета. Все образцы вакцин были стерильны, имели необходимую стабильность – 1,5–4 мм, вязкость – 27–30 мм²/с и соответствовали классу подобных препаратов.



При учете результатов реактогенности было отмечено, что в течение всего периода наблюдения птица во всех четырех группах оставалась клинически здоровой. При вскрытии места введения препарата у птиц всех подопытных групп под кожей в области шеи и нижней части зоба обнаружены незначительные остатки нерассосавшейся вакцины без признаков воспалительной реакции.

Полученные симптоматические и патологоанатомические данные указывают на ареактогенность всех испытанных образцов вакцин.

Результаты антигенной активности опытных образцов инактивированных вакцин представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты антигенной активности испытуемых образцов вакцин

№ группы	Наименование вакцины	Титр антител в ИФА								Титр антител в РТГА						
		к вирусу РЕО				к <i>M. gallisepticum</i>				к вирусу						
		до 1 вакцинации	через 1 мес. после 1 вак.	через 1,5 мес. после 1 вак.	через 1 мес. после 2 вак.	до 1 вакцинации	через 1 мес. после 1 вак.	через 1,5 мес. после 1 вак.	через 1 мес. после 2 вак.	ИБК	НБ	ССЯ-76	до 2 вак.	через 1 мес. после 2 вак.	до 2 вак.	через 1 мес. после 2 вак.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	1 вак. «PM» 2 вак. «PM»					444	1806	4218	13140							
2	1 вак. «РЕО» 2 вак. «РЕО»	173	2986	3017	29693											
3	1 вак. «РЕО + РМ» 2 вак. «РЕО + РМ»	104	2590	2310	10196	89	1030	1322	5679							
4	1 вак. «PM» 2 вак. «ИБК + НБ + ССЯ-76 + РМ»					277	2227	2451	9188	2253	10759	1,25	10,0	0	10,5	
5	КОНТРОЛЬ	279	196	627	700	208	311	453	995	3583	1927	1,2	1,0	0	0	

Из данных табл. 1 следует, что в сыворотках крови птиц всех 5 групп до первой иммунизации антитела к реовирусу и *M. gallisepticum* отсутствовали.

В первой группе цыплят, привитых моновакциной против «PM», через 1 месяц получен результат, подтверждающий процесс антителообразования (1:1806), а через 1,5 месяца – положительный (1:4218). После ревакцинации он достиг уровня 1:13140.

Во второй группе цыплят титр антител к антигену «РЕО» через 1 и 1,5 месяца после иммунизации был положительным – 1:2986 и 1:3017, а после ревакцинации увеличился до значения 1:29693. Достаточный уровень антител к реовирусу у цыплят третьей группы, однократно привитых ассоциированной вакциной «РЕО + РМ», отмечали спустя 1 и 1,5 месяца, после ревакцинации титр антител к этому антигену значительно увеличился и достиг значения



1:10196, но был ниже в 2,9 раза показателя, полученного при использовании моновалентной вакцины.

Следует отметить, что комбинация компонентов РМ и РЕО в образце вакцины «РЕО + РМ» оказала негативное влияние на процесс формирования антител к *M. gallisepticum*: после первой иммунизации титр антител был слабopоложительным, а после второй – ниже в 2,3 раза, по сравнению с результатами, полученными при испытании моновалентной вакцины «PM».

Ассоциированная вакцина «ИБК + НБ + ССЯ-76 + РМ» оказала выраженный протективный эффект: через 1 месяц после применения в сыворотках крови привитых птиц был выявлен высокий уровень антител ко всем антигенам: *M. gallisepticum* – 1:9188; ИБК – 1:10579; НБ – 10 log2 и ССЯ-76 – 10,5 log2.

Целесообразность применения ассоциированных инактивированных вакцин, особенно с антигеном *M. gallisepticum*, в птицеводстве очевидна, но, тем не менее, необходимо досконально изучить механизм формирования антител ко всем входящим в их состав компонентам.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что широко применяемая в промышленном птицеводстве ассоциированная инактивированная вакцина «НБ + ИБК + ССЯ-76» не теряет своих антигенных свойств при введении в ее состав антигена *M. gallisepticum*. Вакцина «РЕО + РМ» после двукратного применения в 50 и 95 дней обеспечивает выработку достаточного уровня антител к антигену РЕО, но ниже, чем при применении моновалентной вакцины «РЕО» (1:10196 против 1:29693). По антигену *M. gallisepticum* были получены похожие результаты, однако уровень антител во все исследуемые сроки отмечался ниже, чем при применении моновакцины.

Заключение

Ассоциированные инактивированные эмульсионные вакцины против реовирусной инфекции (РЕО) и *M. gallisepticum*, а также против инфекционного бронхита кур (ИБК), ньюкаслской болезни (НБ), синдрома снижения яйценоскости – 76 (ССЯ-76) ассоциированной с *M. gallisepticum* при испытании в лабораторных условиях обладали достаточной антигенной активностью по всем компонентам в исследуемые сроки.

Респираторный микоплазмоз птиц: особенности эпизоотологии, диагностики и профилактики

Рождественская Т. Н.; Борисенкова А. Н.; Панкратов С. В.; Кононенко Е. В. –
НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП

Краткая характеристика микоплазм

Микоплазмы – это уникальные прокариотические организмы, имеющие лишь одну липопротеиновую мембрану, выполняющую функции клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Они относятся к классу *Mollicutes*, в который входят ахлеплазмы, спиролазмы, уреоплазмы, анаэроплазмы. По структурной организации молликуты близки к L-формам. Но в отличие от них геном молликут крайне упрощен и экономен и поэтому не предполагает реверсии клеточной стенки.

Геном микоплазм – наименьший из всех свободно-живущих организмов, что делает его зависимым от «хозяина» в питательных веществах, необходимых для обеспечения жизни.



Поэтому вне организма хозяина он может существовать лишь очень короткий период – не более 2–4 суток.

Основная особенность паразитирования микоплазм в организме состоит в том, что они являются внутриклеточными микроорганизмами, и их паразитизм – способ выживания и сохранения вида.

Локализация в клетках организма делает микоплазмы труднодоступными для факторов иммунитета, антибиотиков и химиотерапевтических препаратов, что создает определенные сложности в борьбе с ними.

Из известных в настоящее время 102 видов бактерий рода *Mycoplasma* для птицы патогенны 8, приведенных в табл. 1.

Таблица 1. Микоплазмы, выделяемые от птиц

Вид микоплазм	Вид поражаемой птицы (хозяин)
<i>M. gallisepticum</i>	Курица, индейка, фазан, куропатка, павлин, перепелка
<i>M. synovia</i>	Курица, индейка
<i>M. meliagridis</i>	Индейка
<i>M. iowae</i>	Курица, индейка
<i>M. anseris</i>	Гусь
<i>M. sp.1220</i>	Гусь
<i>M. anatis</i>	Утка, гусь
<i>M. imitans</i>	Утка, гусь, индейка

Помимо упоминаемых в табл. 1 восьми видов из рода *Mycoplasma* следует отметить наличие патогенного для страусов одного вида ахолеплазм, а также одного вида уреоплазм, способного вызывать заболевание у цыплят и индеек.

Патогенное значение различных МП неодинаково. Наибольшую опасность представляет *M. gallisepticum*. На основании проведенных в последнее время серологических исследований можно констатировать увеличение распространения в птицеводческих хозяйствах *M. synovia*. Нередко отмечают смешанное течение обеих инфекций.

Пути передачи микоплазм

Чтобы успешно бороться с РМ, необходимо знать, как вызывающие это заболевание микоплазмы распространяются в популяциях птицы (табл. 2). Они передаются вертикально через инфицированное яйцо (эмбрион) и горизонтально – воздушно-капельным путем. Вертикальная трансмиссия патогенных микоплазм – основная причина распространения инфекции в стаде.

Схема передачи *M. gallisepticum*

Вертикальный путь (через яйцо)	Горизонтальный путь (воздушно-капельный)
	трахея → легкие → воздухоносные мешки → система кровообращения → яичники → яйцевод → яичные фолликулы

Особенность микоплазмоза – его «ползучесть», то есть для передачи возбудителя требуется тесный контакт. Здоровые цыплята заражаются, склевывая у больных подсохшие корочки вокруг ноздрей. Экспериментально доказано, что один больной цыпленок может за



два месяца присутствия в стаде заразить до 400 здоровых при напольном содержании, при клеточном процесс перезаражения микоплазмами происходит медленнее.

Быстрота передачи МП в стаде зависит от:

- инвазивных свойств штаммов микоплазм;
- наличия вторичных бактериальных (в первую очередь колибактериоза) и вирусных инфекций;
- плотности посадки птицы;
- стрессов, связанных с интенсивным содержанием птицы;
- нарушений условий содержания (в частности, повышенная концентрация аммиака).

В воротах инфекции МП фиксируются на ресничках и поверхности эпителиальных клеток, в результате чего нарушается их нормальная (защитная) функция и возбудитель беспрепятственно проникает в воздухоносные мешки и легкие, вызывая их поражение и активизируя патогенное действие бактерий, находящихся в респираторных органах. Поскольку система воздухоносных мешков у птиц проходит по всему организму от головы до хвоста, а абдоминальный воздухоносный мешок обволакивает практически все внутренние органы, попадание МП в организм вызывает развитие генерализованного процесса, в котором нередко принимают участие и другие агенты (бактерии и вирусы). Как следствие, на острой фазе заболевания развиваются аэросаккулиты (от серозных до фибринозных). Затем МП попадают в кровь, распространяются по всему организму, включая суставы, яичники и яйцеводы. На хронической фазе инфекции МП могут колонизировать яйцевод и ткани вокруг яичника, что ведет к снижению яйценоскости, повышению смертности эмбрионов и трансмиссии возбудителя через яйцо.

Основной этап передачи микоплазм как вертикальным, так и горизонтальным путем – это вывод цыплят, если в выводной шкаф инкубатория наряду с благополучными яйцами попадают инфицированные. Нами был разработан микробиологический мониторинг (контроль) воздуха выводного шкафа в процессе вывода цыплят или перед их выборкой. Метод позволяет контролировать их при посадке на выращивание в отношении возбудителей бактериальных болезней и далее принимать соответствующие меры.

Контроль МП

РМ птиц – одно из наиболее экономически значимых для промышленного птицеводства заболеваний. Наносимый им ущерб обусловлен прямыми и косвенными потерями. Прямые потери – это повышенная смертность эмбрионов, цыплят и кур, снижение яичной продуктивности в среднем на 20% (за счет уменьшения выводимости, задержки яйцекладки на 2–3 недели), темпов роста бройлеров, а также конверсии корма на 10–15%. Эти показатели также могут служить для оценки эпизоотической ситуации по МП. Косвенные потери связаны с индукцией микоплазмами иммуносупрессии, что снижает резистентность птицы к другим патогенным агентам и эффективность специфической профилактики вирусных инфекций, а также повышает частоту поствакцинальных осложнений.

Основным этиологическим агентом РМ птицы является *M. gallisepticum*. Эта микоплазма чаще, чем *M. synovia*, вызывает заболевание с типичной симптоматикой и значительными экономическими потерями для хозяйств. При моноинфекциях заболевание сопровождается поражением воздухоносных мешков, синуситом и конъюнктивитом.

РМ птицы обычно протекает в ассоциации с другими бактериальными (колибактериозом, пастереллезом, гемофилезом, аспергиллезом, стафилококкозом и т.д.) и вирусными (реовирусом, инфекционным ларинготрахеитом, ньюкаслской болезнью, гриппом, инфекционным бронхитом) инфекциями. Это отражается на симптоматике РМ и диктует необходимость уточнения диагноза лабораторными методами (бактериологическими и серологическими).

Для выделения микоплазм от павшей или вынужденно убитой птицы берут материал из наиболее часто поражаемых органов (носовых синусов, трахеи, легких, воздухоносных мешков). При жизни птицы с этой целью можно исследовать выделения из носа и глаз.

На характер проявления РМ оказывают влияние многие факторы, начиная от условий содержания (микроклимат птицеферм и т.д.) и заканчивая иммунным статусом стад птицы и системой их биозащиты.

В странах ЕС и США существуют специальные государственные программы контроля РМ птицы, основанные на уничтожении серопозитивных стад, жестких карантинных мероприятиях при импорте яйца, птицы, птицеводческой продукции и кормов, а также контроле экспортируемой продукции птицеводства. К сожалению, последнему в ряде из этих стран уделяют меньшее внимание, что может способствовать распространению МП в другие государства. Тем не менее строгое выполнение упомянутых выше мер позволило ряду государств стабилизировать ситуацию по РМ, и в настоящее время в них свободно от этой инфекции значительное количество племенных хозяйств.

Программа эпизоотического благополучия птицеводческих хозяйств по РМ, к должна включать следующие основные этапы:

- серологический мониторинг;
- дифференциальную диагностику;
- своевременное выявление и уничтожение инфицированной птицы;
- применение антибиотиков и средств химиотерапии;
- специфическую профилактику;
- контроль за соблюдением ветеринарно-санитарных и технологических параметров выращивания птицы.

Диагноз на РМ ставят комплексно с учетом эпизоотологической ситуации, клинического и патологоанатомического проявления болезни, данных лабораторных исследований, в т.ч. выявления специфических антител в сыворотке крови птицы. Исключить то, что обнаруженные антитела приобретены от матери или после вакцинации, можно по сероконверсии, т.е. по повышению титра антител в парных пробах сыворотки крови, взятых от птицы с интервалом в 2 недели.

Для серологической диагностики РМ пользуются реакцией агглютинации (пробирочной и микрометодом на стекле) и ИФА. В настоящее время набор диагностикумов для постановки данного теста выпускает НПП «АВИВАК». Благодаря высокой чувствительности и специфичности ИФА позволяет контролировать динамику энзоотий микоплазмозов, корректировать сроки вакцинации и обоснованно планировать профилактическое применение лекарственных препаратов.

С профилактической и лечебной целью при РМ птицы пользуются антибиотиками широкого спектра действия. Однако их бессистемное применение без учета всех членов ассоциации патогенных агентов, участвующих в инфекционном процессе, и их чувствительности к лекарственным препаратам зачастую не позволяет добиться желаемых результатов.

Важным методом контроля РМ служит вакцинопрофилактика.

В промышленном птицеводстве находят применение живые и инактивированные вакцины против респираторного микоплазмоза птиц. С разным успехом используют живые вакцины против респираторного микоплазмоза из авирулентных штаммов (R, F, 6/85, TS-11). Было также установлено, что применение инактивированных вакцин позволило повысить яйценоскость на 3–8%, получение инкубационного яйца – на 2–4%, увеличить среднесуточный привес и снизить затраты корма на единицу продукции. Немаловажным фактором в пользу вакцинации птицепоголовья является уменьшение возможности трансвариальной передачи возбудителя потомству, при иммунизации родительских стад.

Инактивированную эмульсионную вакцину «АВИВАК-РМ» против РМ птицы готовят из штамма S6 *M. gallisepticum* с применением нового адъюванта, позволившего снизить реактогенность и повысить иммуногенность препарата. Ее вводят птице в нижнюю треть шеи.

Нами была проведена работа по определению напряженности иммунитета у цыплят, привитых инактивированной эмульсионной вакциной согласно наставлению по применению. Вакцина вводилась в область нижней трети шеи в объеме 0,5 см³, первый раз в возрасте 5 недель с последующей ревакцинацией за 4 недели до начала яйцекладки.

Выявление антител в сыворотках крови птиц к *M. gallisepticum* проводили иммунно-ферментным анализом с использованием наборов производства НПП «АВИВАК».

Пробы крови брали за сутки до и через 30 и 60 дней после первой вакцинации, а после второй иммунизации через – 1; 1,5; 2,5; 3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7,5 и 8,5 месяцев. Аналогичные исследования проводили в интактном контроле.

Результаты определения активности инактивированной эмульсионной вакцины представлены на рис. 1. В сыворотках крови цыплят 30-суточного возраста (до вакцинации) антитела отсутствовали. Через 1 месяц после первой иммунизации титр антител составил 1:2026, а через 2 месяца он возрос до уровня 1:5579. Эти данные свидетельствуют о высокой антигенности уже после первой вакцинации.

После второй иммунизации самый высокий титр антител пришелся на 30 и 45 день (1:19516 и 1:24254), затем он удерживался 75 по 135 день на уровне 1:14040–1:10911) и на 195–255 день стабилизировался на значениях 1:5626–1:5867.

В контрольной группе титр антител во все указанные сроки составлял 1:48–1:398, что в соответствии с методом исследований дает отрицательный результат, подтверждает чистоту опыта и достоверность полученных результатов.

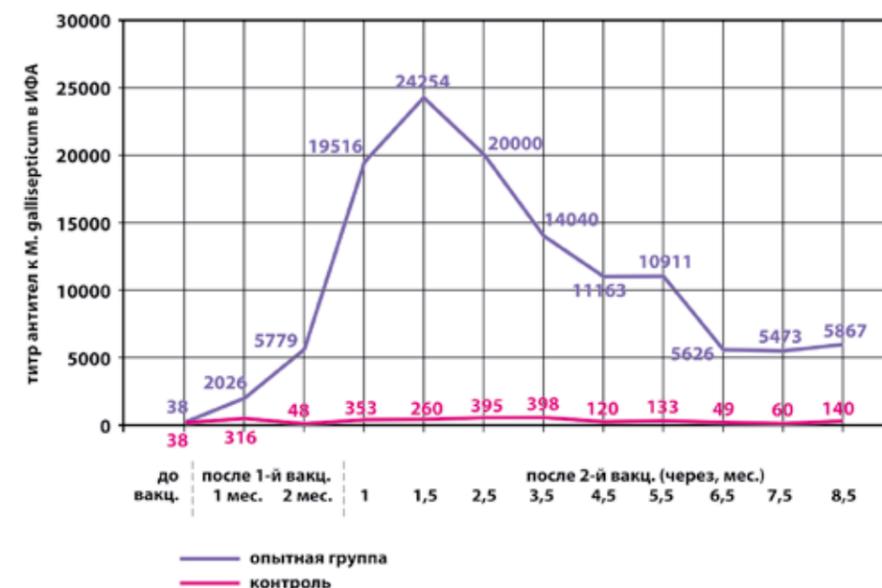


Рисунок 1. Антигенная активность инактивированной эмульсионной вакцины «АВИВАК-РМ»

Из представленных данных видно, что разработанная инактивированная эмульсионная вакцина «АВИВАК-РМ» обладает высокой антигенной активностью, сохраняющейся продолжительное время 8,5 месяцев (срок исследования). Сейчас вакцина широко используется в птицеводствах разного направления РФ.



Заключение

Правильное и своевременное применение специфической профилактики микоплазмоза, основанное на данных серологических и бактериологических исследований, в сочетании с химиопрофилактикой позволяет успешно контролировать инфекцию в промышленном птицеводстве.

Проблемы антибиотикотерапии респираторного микоплазмоза птиц

Белкин В. А. – НПП «АВИВАК»

Резюме

Проведен анализ чувствительности референтных и полевых штаммов, возбудителей респираторного микоплазмоза (РМ), к наиболее часто применяемым в производстве противомикробным средствам. Учитывая значение минимальной ингибирующей концентрации, установлена устойчивость к большинству исследованных препаратов. Наиболее эффективными оказались препараты содержащие тиамутин и китасамицин. Необходимо перед использованием противомикробных средств обязательно уточнять минимальную ингибирующую концентрацию, чтобы получить ожидаемый терапевтический эффект.

Введение

Одним из эффективных средств контроля РМ в птицеводстве являются химиотерапевтические препараты (ХТП). Применение их в птицеводстве позволяет значительно повысить экономические показатели при выращивании птицы. Однако в последнее время в птицеводстве возникает проблема неэффективности применяемых препаратов. Успехи противомикоплазменной терапии последних 20-и лет практически достигли нулевой отметки. Это может быть проиллюстрировано минимум по 3-м характеристикам: динамикой практической значимости антимиоплазменных препаратов, количеством новых ХТП и эффективностью контроля микоплазмоза. Уже пятьдесят лет применяют в ветеринарной практике тилозин. Самыми новыми, на данный момент, антимиоплазменными ХТП являются фторхинолоны, а им уже более 20-и лет. Они модифицируются, но им придаются полезные свойства в основном по спектру противомикробного действия.

Учитывая давность использования этих препаратов в ветеринарной практике и часто бессистемное, с нарушением доз и схем их применение, оно не только не эффективно, но и наносит существенный ущерб за счет развития резистентности у вида *M. gallisepticum*. Определение чувствительности микоплазм к ХТП является основой для их практического применения. Для рационального подбора средств эффективной антимиоплазменной терапии и профилактики возникновения и распространения инфекции необходимо знать чувствительность выделенных культур возбудителей к антимиоплазменным препаратам. Результаты определения чувствительности должны иметь количественное выражение. Значимость этой работы заключается в том, что эффективность ХТП будет зависеть не только от правильно определенной *in vitro* чувствительности, но и от ряда других, иногда трудно прогнозируемых факторов: фенотипической и генотипической изменчивости возбудителя и особенностей фармакокинетики и фармадинамики препаратов.

Целью проведенных исследований явилось выделение полевых культур РМ и определение эффективности к наиболее часто применяемым ХТП по отношению к ним в сравнении с референтными штаммами микоплазмы.



Материалы и методы

Для выделения и клонирования микоплазм использовали питательные среды и методики, принятые в микоплазматологии. Идентификацию микоплазм проводили методом РА с применением специфических сывороток и референтных штаммов микоплазм по стандартным методикам. Испытание проводили на 4-х клонированных изолятах *M. gallisepticum*, выделенных от птиц нескольких птицефабрик, одного от зарянки *Eritracus rubecula* и двух референтных штаммов – S₆ и PG-31.

Оценку эффективности ХТП определяли с использованием терапевтического индекса «Т» по формуле $T = \text{МИК} / K$,

где: МИК – минимальная ингибирующая концентрация (мкг/мл),

K – концентрация данного антибиотика (мкг/мл) в крови.

Эффективность химиопрофилактики оценивается положительно, если $T < 0,3$.

Результаты концентрации некоторых антибиотиков в крови кур представлены в табл. 1.

Таблица 1. Концентрация антибиотиков в крови кур (K, мкг/мл) после введения среднетерапевтических доз препарата

№ п/п	Антибиотик	K, (мкг/мл)
1	2	3
1	Гентамицин	6–8
2	Тетрациклин	3–5
3	Доксициклин	3–5
4	Китасамицин	1,3–3
5	Тиамутин	0,78–1,2
6	Тилозин	0,12–0,6
7	Энрофлоксацин	1,5–1,75

Для наиболее значимых для профилактики РМ препаратов тилозина и тиамутина этот показатель установлен при выпаивании с водой в концентрации 0,05% и 0,025% соответственно.

Результаты исследования

Результаты исследований МИК антимиоплазменных препаратов *in vitro* к референтным и полевым штаммам *M. gallisepticum* представлены в табл. 2.

Таблица 2. Минимальные ингибирующие концентрации антимиоплазменных препаратов *in vitro*

№ п/п	Название антибиотика, серия, №, срок годности	Основное действующее вещество, (мг/г)	МИК, мкг/мл	
			Референтные	Полевые
1	2	3	4	5
1	Macrolan ns 252325; 05.2010	Tylosin tartrate 1000	>5	>10
2	Тилозин тартрат Гранулят 09031089015 АО Биовет (Болгария); 03.2012	Tylosin tartrate 800	>5	>10



1	2	3	4	5
3	Витроцил-352546 Inter chemic Holland; 10.2012	Энрофлоксацин 100	0,025	0,025
4	Тилан ВJ 120201; 03.2010	Tylosin tartrate 1000	>5	>10
5	Квинокол гидро Revex NO8/4-4	Энрофлоксацин 100	0,625	0,625
6	Тилозин тартрат 09061089050, АО Биовет (Болгария); 06.2012	Tylosin tartrate 800	>5	>10
7	Препарат зашифрован	Tylosin tartrate 1000	>5	>10
8	Препарат зашифрован	Доксициклина гидрохлорид 200	0,625	1,25
9	Препарат зашифрован	Доксициклина гидрохлорид – 100 мг + Tylosin tartrate 100	>2,5	>5
10	Препарат зашифрован	Флорфеникол 100	0,4	1,6
11	Препарат зашифрован	Энрофлоксацин 100	0,02	0,078
12	Препарат зашифрован	Тилмикозин-фосфат 250	0,016	0,016
13	Тиамутин тартрат	Тиамулин 1000	0,009	0,036
14	Пульмотил	Tylosin tartrate 1000	0,19	3,125
15	Колифлокс	–	15,625	31,25
17	Окситетрациклин гидрохлорид	Тетрациклин	15,625	15,625
18	Гентамицин БОУ	Гентамицин 1000	>100	>100
19	Тиланик	Tylosin tartrate 1000	6,25	>10
20	Тиланик 02.01.10–02.01.13	Tylosin tartrate 1000	0,2	0,78
21	Китасамицин	Китасамицин тартрат 1000	0,09	0,19
22	Тетрациклин + тиамулин	Тиамулин 200	0,0125	0,025
23	Тетрациклин + фармазин	Tylosin tartrate 200	1,25	3,8

Расчет эффективности применения антибиотиков на примере окситетрациклина гидрохлорида.

МИК тетрациклина = 15.625.

Известно, что величина К тетрациклина при использовании среднеарифметических доз – 4 мкг/мл (3–5) (табл. 1), максимальных доз – 10 мкг/мл.

Следовательно, в нашем случае терапевтический индекс будет равен:

$T = 15.625:4 = 3.9 (>0,3)$, т.е. возбудитель микоплазмоза устойчив к антибиотику и лечение тетрациклином не даст антимикробного эффекта, даже при использовании и максимальных доз ($T = 15.625:10 = 1,5625$).

Руководствуясь приведенным примером и данными таблиц с МИК антибиотиков, легко можно рассчитать их эффективность.

Из представленных в табл. 2 результатов исследований видно, что из 23 исследованных антимикоплазменных препаратов или их комбинаций только китасамицин и тиамулин были эффективны в отношении к полевым штаммам *M. gallisepticum* ($T < 0,3$). При этом их МИК к референтным штаммам была в среднем в 2–4 ниже, чем к полевым, что указывает на развитие резистентности. Ни один из препаратов, содержащий тилозин, не был эффективен в отношении полевых штаммов микоплазм.

Дополнительно проведено сравнительное испытание 4 антибиотиков макролидной группы в отношении референтных и полевых штаммов *M. gallisepticum*. Результаты представлены в табл. 3.



Таблица 3. Сравнительное испытание 4 антибиотиков макролидной группы в отношении референтных и полевых штаммов *M. gallisepticum*

№ пп	Название антибиотика	серия, №, производитель, срок годности	МИК, мкг/мл			
			S ₆	Pg-31	Полевой КС-7	Полевой И-1
1	2	3	4	5	6	7
1	Тилозина тартрат гранулят	09031089015 АО «Биовет» (Болгария); 03.12.	10	6,25	6,25	>10
2	Тилозина тартрат гранулят	0210281330 АО «Биовет» (Болгария); 05.2010	25	25	50	>50
3	Макролан	ns 252325; 05.2010	7,8	7,8	7,8	15,6
4	Макролан	б/н	2	2	2	6,25

Полученные данные наглядно свидетельствуют о том, что даже одинаковые препараты от одного производителя могут существенно отличаться по своей антимикробной активности как к полевым, так и референтным штаммам микоплазм.

Выводы

Для рационального подбора средств эффективной антимикоплазменной терапии и профилактики распространения инфекции необходимо проводить выделение циркулирующего в хозяйстве возбудителя респираторного микоплазмоза с последующим определением его чувствительности к антимикробным препаратам с установлением минимальной ингибирующей концентрации.

Рекомендации по проведению микробиологического мониторинга вывода и выращивания цыплят

Рождественская Т. Н.; Борисенкова А. Н., профессор; Новикова О. Б., к. в. н. – НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП;
Чавгун В. А. – ОАО «Даниловская птицефабрика»;
Бовкун Г. Ф., к. в. н. – Брянская ГСХА

1. Введение

Микробиологический мониторинг вывода цыплят – основа прогноза эпизоотической ситуации в птицеводстве в отношении бактериальных болезней птиц.

Бактериальные болезни занимают существенное место в патологии птиц.

Длительное пребывание птиц в замкнутом территориальном пространстве способствует накоплению и спонтанному пассажированию микрофлоры через восприимчивый организм. Отсутствие в широкой ветеринарной практике промышленного птицеводства эффективных средств прижизненной диагностики, за исключением пуллорозатифа, отсутствие эффективных средств специфической профилактики бактериальных болезней птиц, широкая полирезистентность патогенной и условно-патогенной микрофлоры к антибиотикам и химиопрепаратам осложняет осуществление контроля по бактериальным болезням птиц в птицеводствах и проведение надежных мер профилактики.

Практически все бактериальные болезни передаются с яйцом, часть – трансвариально, большинство – за счет поверхностной контаминации скорлупы при прохождении через клоаку с последующим всасыванием через поры, которых может быть от 7000 до 17000.



Проникновению микроорганизмов в яйцо также способствуют трещины, повышенная влажность при хранении и другие факторы. В период инкубации происходит накопление в эмбрионе микрофлоры, попавшей либо через инфицированный желток, либо через контаминированную скорлупу. В процессе вывода микрофлора попадает в воздух выводных шкафов, причем с увеличением процента вывода, увеличивается количество микрофлоры в воздухе выводного шкафа; так при выводе 30–40% количество микрофлоры в 2–3 раза больше чем в начале вывода, а при 60–70% уже в 7–10 раз.

Поэтому мы выделили выводной шкаф инкубатория как начальное звено в технологии промышленного птицеводства, позволяющее оценить чистоту вывода цыплят. Это звено уникально по нескольким показателям:

- в выводном шкафу инкубатория самая высокая концентрация поголовья на 1 м³;
- только в выводном шкафу инкубатория взаимодействуют как вертикальный так и горизонтальный пути передачи инфекции;
- аэрогенное заражение цыплят на выводе – это острый сепсис, сопровождающийся падежом цыплят в первые две недели жизни. Основным патологоанатомическим признаком при этом является острая катаральная пневмония;
- оптимальный температурный и влажностный режим;
- в выводном шкафу инкубатория возможен прижизненный контроль за бактериальными болезнями птиц, прогноз эпизоотической ситуации по бактериальным инфекциям уже при посадке цыплят на выращивание;
- разработка комплекса профилактических мероприятий.

Гибель развивающихся эмбрионов при инкубации может происходить по двум причинам: это технологические нарушения и болезни эмбрионов бактериальной или вирусной этиологии.

Технологический отход эмбрионов, как правило, связан с нарушениями сбора яйца, условий его хранения, транспортировки и нарушения режима инкубации.

На инкубацию должно поступать только биологически полноценное яйцо.

При хранении яйца должен поддерживаться соответствующий температурный и влажностный режим, так как даже небольшие колебания губительно сказываются на получении здорового молодняка. По мере увеличения срока хранения инкубационного яйца снижается показатель оптимальной температуры хранения, увеличивается показатель влажности, появляется необходимость «переворачивать» яйца. Отрицательное влияние на качество вывода оказывает избыток в воздухе CO₂.

Выводной шкаф должен работать при небольшом избыточном давлении.

Получение здоровых цыплят во многом зависит от выполнения ветеринарно-санитарных правил инкубации. Все чаще в ветеринарной практике наблюдаются массовые случаи контаминации инкубационного яйца различными патогенами. Чаще всего контаминация обусловлена следующими причинами:

- яйцо получено от несушки из птичника, где в период выращивания регистрировали выделение *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis* и др.;
- несвоевременный сбор и не качественная дезинфекция инкубационного яйца;
- истонченная скорлупа (яйцо получено от несушки при кормлении несбалансированным по минеральным веществам кормом либо от птицы старше 45-недельного возраста).

2. Микробиологический мониторинг вывода цыплят

Микробиологический мониторинг вывода цыплят – система контроля вывода цыплят, включающая изучение динамики накопления микрофлоры в воздухе с использованием пластин биохимических дифференцирующих стафилококки:



- определение чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам;
- определение вирулентных свойств микрофлоры, выделенной из воздуха выводного шкафа на модели интраорбитального заражения суточных цыплят;
- мероприятия по снижению инфицированности выводных шкафов в разные временные сроки от начала и до окончания вывода, изучение инфицированности цыплят на выводе в разные сроки.

Работа включает следующие этапы:

- определение динамики накопления микрофлоры в воздухе выводного шкафа в процессе вывода;
- первичная идентификация микрофлоры с помощью элективных питательных сред;
- видовая экспресс-идентификация с использованием пластин биохимических дифференцирующих энтеробактерии;
- видовая экспресс-идентификация цыплят в период вывода.

2.1. *Приготовление питательных сред.* Кровяной агар (КА) – для выявления гемолитических форм бактерий и подсчета общего количества микроорганизмов. Мясо-пептонный агар (МПА), pH 7,2–7,4 смешивают (при T=50° C) с 5–10% свежей дефибрированной крови петуха или барана. Разливают в чашки Петри, подсушивают в термостате 20–30 мин.

Желточно-солевой агар (ЖСА) Г.Н. Чистовича – для выделения кокковой микрофлоры. В расплавленный и остуженный до 60° C МПА pH 7,2, содержащий 10% хлористого натрия, прибавляют 10–20% желточной взвеси: желток асептически извлекают из яйца, тщательно взбалтывают в 200 мл физиологического раствора. Агар с желточной взвесью разливают в чашки Петри и подсушивают в термостате 20–30 мин.

Агар Эндо – для выделения энтеробактерий. Готовят из коммерческого порошка в соответствии с инструкцией по приготовлению в день использования.

Агар Сабуро – для выделения плесневых грибов. Основа среды – дрожжевая вода. На 1 литр воды берут 80 г пересованных пекарских дрожжей, кипятят 15 минут, фильтруют и стерилизуют при 1 атм. в течение 20 минут. К 100 мл стерильной дрожжевой воды добавляют 1% пептона, 2% агара и нагревают до растворения агара, затем добавляют 4% глюкозы, фильтруют, стерилизуют при 0,5 атм. в течение 20 мин., разливают в чашки Петри. Чашки выдерживают в термостате 48 часов при температуре +22° C.

2.2. *Микробиологический мониторинг вывода цыплят.* Микробиологический мониторинг вывода цыплят начинают проводить при 10–15% выводе, для чего чашки Петри с питательными средами – 5% КА, Эндо, ЖСА, Сабуро необходимо установить в выводные шкафы на 3-х уровнях (верх, середина, низ), время экспозиции 1 минута. Затем исследования повторяют каждые 2 часа до окончания вывода. Если отсутствует необходимость определять накопление микроорганизмов в воздухе в динамике, исследования проводят однократно, в момент достижения вывода 40–50%.

В момент экспонирования чашек вентиляция в выводных шкафах должна быть отключена, двери шкафа плотно закрыты. Чашки Петри перед экспонированием необходимо подписать – дата, № шкафа, время экспозиции, месторасположение (верх, середина, низ) после экспонирования поместить в термостат на 18–24 часа при температуре +37° C, чашки Петри со средой Сабуро помещают в термостат на 48 часов при температуре +22° C. Затем проводят учет результатов и идентификацию выделенных культур.

2.3. *Определение количества и первичная идентификация микрофлоры воздуха выводных шкафов с использованием элективных питательных сред.*

2.3.1. На 5% КА подсчитывают общее количество колоний и количество колоний, образующих зону гемолиза. Выявление последних указывает на присутствие в воздухе патогенных



микроорганизмов. Делают мазки из колоний разного типа, пересев на различные питательные среды для дальнейшей идентификации и определения чувствительности к антибиотикам.

2.3.2. На ЖСА учитывают колонии стафилококков, их пигмент, количество колоний, образующих зону расщепления лецитина – радужный венчик. Затем колонии отсеивают для определения чувствительности к антибиотикам. При необходимости дальнейшую идентификацию проводят с помощью пластин биохимических дифференцирующих стафилококки и определение вирулентных свойств на модели интраорбитального заражения суточных цыплят.

2.3.3. На среде Эндо определяют количество колоний, их тип по интенсивности ферментации лактозы (по способности изменять цвет среды). Затем делают мазки и пересевы на МПА для дальнейшей идентификации с использованием селективных питательных сред или пластин биохимических дифференцирующих энтеробактерии, для определения чувствительности к антибиотикам и вирулентных свойств.

Серотипирование кишечной палочки проводят по О, К, Н и адгезивным антигенам с использованием типоспецифических агглютинирующих О-сывороток и антиадгезивных (коли-адгезин-тест) сывороток.

Для идентификации сальмонелл используют серологическую типизацию по О и Н-антигенам в реакции агглютинации с поливалентной и групповыми О-сыворотками и с монорецепторными О и Н-сыворотками.

2.4. Ускоренный метод идентификации выделенных культур с использованием пластин биохимических дифференцирующих энтеробактерии и стафилококки. Метод включает в себя культивирование, микроскопию, родовую и видовую идентификацию микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* с использованием пластин биохимических дифференцирующих энтеробактерии (ПБДЭ) или стафилококки (ПБДС), на основе специально разработанных культуральных тест-систем, предложенных Нижегородским НИИЭМ.

2.4.1. Оборудование, реагенты, материалы.

- скошенный в пробирках МПА или среда Олькеницкого (к 100 мл питательного агара рН 7,2–7,4 прибавляют 1,0 г лактозы, 0,02 г соли Мора, 0,03 г гипосульфита, 1,0 г сахарозы, 0,1 г глюкозы, 1,0 г мочевины, 0,4 мл фенолового красного 4% раствора
- пипетки на 1,0; 5,0; 10,0 см³
- хлористый натрий ГОСТ 4233–77 хч или чда
- пастеровская петля
- газ или спиртовая горелка
- образец отраслевой стандартный для визуального определения
- бактериальных взвесей (10 единиц)
- термостат с температурой нагрева +37° С
- рН-метр
- микроскоп с иммерсионным объективом
- пластины биохимические дифференцирующие энтеробактерии (ПБДЭ) и стафилококки (ПБДС)

2.4.2. Видовая идентификация энтеробактерий.

Колонии отбирают с агара Эндо, МПА или со среды Олькеницкого (трехсахарный агар с мочевиной для энтеробактерий). Используют культуры, выращенные в течение 21+3 часов при температуре +37° С.

Готовят суспензию культуры микроорганизма в стерильном 0,85% растворе хлористого натрия рН 6,00+0,05 и доводят мутность суспензии до 10 единиц по отраслевому стандартному образцу для визуального определения мутности бактериальных взвесей, стеклянному. При отсутствии отраслевого стандартного образца в 4 мл стерильного физраствора вносят исследуемую (2–3 петли) культуру до появления видимой мутности. Затем пипеткой, вмес-



тимостью 1 мл, добавляют по 0,15 мл микробной суспензии, кроме лунки для обнаружения сероводорода, куда вносят только 0,05 мл (1 капля) суспензии, в 20 лунок планшетки, на дно которых нанесены соответствующие субстраты с индикаторами, стабилизированные поливиниловым спиртом. Заливают лунки для обнаружения сероводорода 0,1 мл растопленного и охлажденного до (39+10)° С мясопептонного бульона, содержащего 0,6% агара и перемешать содержимое лунки для более быстрой диффузии субстрата в инокулят. Далее планшет закрывают и выдерживают в течение 20+2 часов при температуре (37+1)° С, учет результатов производят в соответствии с цветовым указателем, приложенным к ПБДЭ.

2.5. Определение патогенных свойств микроорганизмов, выделенных из воздуха выводного шкафа, при выращивании на селективных питательных средах. О патогенных свойствах микроорганизма судят по наличию у них факторов патогенности, гемолизинов, лецитовителлазы, коагулазы и др.

2.5.1. Определение гемолитических свойств.

При учете результатов на кровяном агаре с 5% крови измеряют в миллиметрах зону гемолиза, идентифицируют гемолитическую культуру. Гемолитическими свойствами обладают патогенные стафилококки эшерихии, синегнойная палочка и другие микроорганизмы.

2.5.2. Определение плазмокоагуляционной активности.

Способность микробов коагулировать плазму изучают, используя центрифугат свежий, стерильно взятой крови кролика, содержащей 1% цитрата, или коммерческую кроличью плазму, разведенную физиологическим раствором до нативной. Затем нативную плазму разводят физиологическим раствором 1:4, разливают в стерильные пробирки по 0,5 мл и вносят туда по 1 петле испытуемой суточной агаровой культуры. Пробирки помещают в термостат 37° С. Учет реакции проводят через 1, 2, 4 и 18 часов. Положительной считают реакцию, идущую с образованием в пробирке сгустка любой величины. Плазмокоагулирующая активность находится в обратно пропорциональной зависимости от времени образования сгустка.

2.5.3. Определение лецитовителлазной активности.

Лецитовителлазную активность определяют по росту стафилококков на ЖСА с содержанием 10% хлорида натрия. Реакцию учитывают через 24–48 чов после посева. При положительной реакции вокруг колоний наблюдают зону расщепленного лецитина – радужный венчик.

2.6. Определение вирулентных свойств микроорганизмов, выделенных из воздуха выводных шкафов инкубатория на модели интраорбитального заражения суточных цыплят или РКЭ 7–8-дневного срока инкубации при заражении в хориоаллантаоисную полость (ХАП).

Для заражения используют суточную бульонную культуру, которую вводят цыплятам по 0,1 мл во внешний угол глаза между глазным яблоком и орбитальной костью. За зараженными цыплятами наблюдают 5 суток. Культуру считают вирулентной при гибели цыплят в этот период времени, при обнаружении на вскрытии признаков септицемии и токсиемии (пневмония, кровоизлияния на слизистых оболочках почек, изменение цвета и кровоизлияния на печени, катаральный энтерит, дуоденит) и выделении заражающего штамма из внутренних органов. Эмбрионы заражают по 0,1 мл в ХАП, на каждую культуру берут не менее 2–3 эмбрионов. Эмбрионы ежедневно в течение 3 дней овоскопируют. В случае гибели вскрывают и проводят бак. исследования в случае выделения исходной культуры делают заключение о ее вирулентности.

3. Снижение бактериальной инфицированности цыплят на выводе

Снижение количества микрофлоры в воздухе выводного шкафа способствует снижению инфицированности цыплят на выводе и повышению их сохранности при выращивании. С целью предупреждения заражения цыплят на выводе необходимо проводить дезинфекцию



воздуха в выводном шкафу парами формальдегида при постоянном испарении его из кювет размером 40х40 см. Дополнительно, в момент достижения 50–60% вывода цыплят, необходимо однократно провести обработку 2% водным раствором катапола из расчета 5 мл/м³.

Катапол относится к группе поверхностно-активных веществ. В основе бактерицидного действия лежит способность адсорбироваться на поверхности клеточной стенки бактерий. Катапол обладает широким спектром антимикробного действия, проявляя бактерицидную активность в отношении стафилококков, стрептококков, грамотрицательных бактерий (кишечной и синегнойной палочек, клебсиеллы), анаэробных бактерий, грибов и плесеней. Катапол активен в отношении антибиотико-устойчивых возбудителей инфекции, проявляет детоксицирующий эффект, инактивирует гиалуронидазу, подавляя инвазивные свойства возбудителя.

3.1. Обработка цыплят катаполом на выводе. Обработку воздуха выводных шкафов проводят 2% раствором катапола с помощью аппарата САГ–1 из расчета 5 мл/м³. Время экспозиции птицы в аэрозольном облаке 15–20 минут с момента полного распыления препарата. В момент распыления вентиляцию отключают. Аэрозольную обработку цыплят персонал проводит в респираторах и защитных очках.

Для контроля за качеством аэрозольной обработки воздуха проводят микробиологический контроль. Для этого необходимо взять пробы воздуха выводного шкафа до и после аэрозольной обработки, используя питательные среды (ЖСА, 5% КА, агар Эндо, агар Сабуро). Время экспозиции чашек с питательными средами в выводном шкафу – 1 минута. В качестве критерия эффективности аэрозольного применения катапола используют снижение количества колоний на питательных средах.

3.2. Ветеринарно-санитарные мероприятия на выводе. Для уменьшения количества пыли и пуха в выводных шкафах, снижения контаминации воздуха микрофлорой, следует:

- проводить влажное пухоудаление;
- не допускать передержку выведенного молодняка в выводных шкафах;
- для выращивания отбирать развитый, клинически здоровый молодняк с хорошей реакцией на свет и звук, с мягким небольшим животом, чистым пером вокруг клоаки, затянутым пупочным кольцом.

Все отходы инкубации необходимо помещать с специальные влагонепроницаемые плотно закрывающиеся контейнеры, которые на специальном транспорте отвозят на утилизацию и сжигают. После выгрузки отходов инкубации контейнеры моют и дезинфицируют. Бывшую в употреблении тару, лотки переносят в моечную комнату, тщательно промывают горячей водой под давлением 10–12 атм., затем погружают в дезраствор (3% едкий натр, 3% осветленный раствор хлорной извести, Виркон С).

4. Микробиологический мониторинг выращивания цыплят первых дней жизни

С целью дальнейшего контроля за состоянием цыплят первых дней жизни необходимо проводить контроль воздуха птичников и подневный анализ падежа цыплят.

4.1. Микробиологический мониторинг воздуха включает изучение динамики накопления микрофлоры в воздухе птицепомещений с использованием сред, описанных в п. 2.1., проводят 1 раз в сутки с интервалом 5–7 дней.

4.2. Мониторинг падежа цыплят включает:

- сбор павших цыплят (2 раза в день);
- вскрытие павших цыплят, учет патологоанатомических признаков, особое внимание следует обращать на систему органов дыхания;
- бактериологическое исследование трупов;



- идентификация выделенной микрофлоры;
- определение чувствительности выделенной микрофлоры к лекарственным препаратам;
- определение вирулентных свойств выделенных культур.

5. Профилактика бактериальных болезней при посадке цыплят на выращивание

Важным этапом профилактики бактериальных болезней является наблюдение за каждой группой цыплят, полученных из определенного выводного шкафа, при посадке на выращивание. В случае выделения и идентификации патогенной и условно-патогенной микрофлоры из воздуха выводного шкафа в процессе вывода, необходим комплекс мероприятий с целью снижения инфицированности цыплят при посадке на выращивание для купирования инфекции. С этой целью необходимо проводить аэрозольные обработки в присутствии птицы антисептиками, в том числе катаполом, эффективными в отношении патогенных микроорганизмов.

5.1. Птицу обрабатывают катаполом одно- или двукратно с интервалом 24 часа, затем делают перерыв 7–10 дней и по показаниям вновь повторяют курс обработки.

Аэрозоль катапола применяют из расчета 1,0 мл/м³ 1,0%-ного водного раствора. Распыляют в закрытых помещениях аппаратами САГ–1, которые подвешивают на высоте 1,0–1,2 м от пола из расчета 1 аппарат на 300–400 м³. Время экспозиции птицы в аэрозольном облаке – 30–40 минут, считая с момента полного распыления препарата.

Помещение, в котором проводится работа с аэрозолем катапола, должно быть оборудовано общей приточновытяжной вентиляцией. Аэрозольную обработку птицы персонал проводит в противогазах или респираторах и защитных очках. После обработки в помещении включают вентиляцию.

5.2. Медикаментозную терапию проводят по показаниям с учетом схем, указанных в наставлениях. Антибиотики применяют в соответствии с установленной чувствительностью.

5.3. Для профилактики бактериальных болезней птиц целесообразно применение препаратов нормальной микрофлоры – пробиотиков. Пробиотические препараты – это препараты нового поколения, содержащие живые молочнокислые бактерии и биологически активные вещества, препятствующие росту и развитию патогенной и условно-патогенной микрофлоры и поддерживающие нормальный микробиоценоз кишечника. Основное их действие – конкуренция с условно-патогенной и гнилостной микрофлорой. Пробиотики безвредны для организма птиц, экологически безопасны, так как не накапливаются в продуктах птицеводства, не обладают побочным эффектом, не вызывают привыкания со стороны патогенной кишечной микрофлоры, стимулируют естественную резистентность макроорганизма, улучшают переваривание кормов, эффективны при кормовых токсикозах. Кроме того, пробиотики обладают и определенным анаболическим эффектом. Именно поэтому, рекомендуется применение пробиотиков в первые дни жизни цыплят (при посадке на выращивание).

6. Заключение

Контаминированное яйцо является основным биологическим звеном в распространении бактериальных болезней птиц. Поэтому особое внимание следует уделять инкубаторию, как самому уязвимому звену технологического процесса в промышленном птицеводстве, именно в выводных шкафах инкубатория в период вывода с увеличением процента вывода резко увеличивается количество микрофлоры в воздухе и происходит массовое перезаражение цыплят. При этом уровень микробной контаминации воздуха и видовой состав микрофлоры зависит от эпизоотического и ветеринарно-санитарного состояния птицеводства.



Микробиологический мониторинг вывода позволяет выявить видовой состав микрофлоры воздуха выводных шкафов, прогнозировать эпизоотическую ситуацию и подобрать оптимальную схему мероприятий с применением эффективных препаратов по профилактике бактериальных болезней птиц уже на начальной стадии технологического процесса промышленного птицеводства.

Респираторный синдром бактериальной этиологии у птиц

Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н. – НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП

Респираторный синдром – наиболее часто встречаемая патология у птиц. Природа респираторного синдрома – полиэтиологична.

Клиническая картина – воспаление тканей в области головы – синуситы, воспаление сережек, межжелудочного пространства, трахеит, пневмония характерна для многих вирусных и бактериальных инфекций. Бактериальные болезни, протекающие со сходной клиникой – респираторный микоплазмоз, пастереллез, стафилококкоз, колибактериоз, орнитобактериоз и другие их ассоциации.

Основополагающей инфекцией с выраженным респираторным синдромом у птиц является респираторный микоплазмоз.

Респираторный микоплазмоз – одно из наиболее значимых заболеваний по экономическому ущербу, наносимому промышленному птицеводству. Связано это напрямую с интенсификацией птицеводческой отрасли. Экономический фактор респираторного микоплазмоза обусловлен сложностью борьбы с этим заболеванием и биологическими особенностями возбудителя. Микоплазмы – это уникальные прокариотические организмы, имеющие лишь одну липопротеиновую мембрану, которая выполняет функции клеточной стенки и цитоплазматической мембраны. Геном молликут, в класс которых входит микоплазма, упрощен и экономичен и поэтому не предполагает возможности реверсии клеточной стенки. Микоплазмы являются самыми маленькими самореплицирующимися формами жизни. Геном микоплазм – наименьший из всех свободноживущих организмов, поэтому они полностью зависимы от хозяина в питательных веществах, необходимых для обеспечения жизни. Увеличение поголовья птиц до много миллионного явилось благодатной почвой для увеличения микоплазм. Диагностировать респираторный микоплазмоз на уровне выделения возбудителя достаточно непросто. Это создает сложность в создании системы контроля этого заболевания.

Широко распространенным методом оценки эпизоотической ситуации в отношении респираторного микоплазмоза является серологический мониторинг выявления антител в сыворотках крови к *Mycoplasma gallisepticum*.

Проведение серологических диагностических исследований позволяет не только оценить эпизоотическую ситуацию птицеводства в отношении респираторного микоплазмоза в целом, но и выявить определенные закономерности.

Из табл. 1, в которой приведены результаты исследований в ИФА на наличие антител в сыворотках крови цыплят к возбудителю респираторного микоплазмоза в одном из хозяйств, очевиден уровень инфицированности поголовья *M. gallisepticum* всех возрастных групп, начиная с цыплят первых дней жизни, и взрослых кур.

Максимальный уровень инфицированности – 100% положительных реакций – установлен у птиц в возрасте 149–226 дней, у кур-несушек в возрасте свыше 450 дней положительных серологических реакций значительно меньше – 18%.



Таблица 1. Результаты исследования в ИФА сыворотки крови цыплят и кур на наличие антител к *M. gallisepticum*

№ п/п	Возраст, (дн.)	Количество проб	Титр антител в интервале значений						Средний титр антител	Количество положительных проб, (%)
			Min	Max	ОТ	НП	ПЛ	ВП		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	5	10	23	594	9	1			128	10
2	5	10	0	659	8	2			138	20
3	266	17	2739	18408			3	14	9483	100
4	456	17	0	1506	14	2	1		250	18
5	465	17	41	1453	14	2	1		249	18
6	149	17	473	11390		2	11	4	2927	100
7	148	17	41	8052	10	2	3	2	1189	41

Другим заболеванием, которое играет существенную роль в развитии респираторной патологии у птиц, является пастереллез. Возбудитель – *Pasteurella multocida*. Пастереллез относится к заболеваниям септического типа. Острое течение пастереллеза вызывают высоко-вирулентные культуры пастерелл. Заболеваемость и смертность птицы быстро нарастают и могут достигать 60–80%, если не принять меры к купированию инфекции.

В последние десятилетия в связи с разработанной эффективной системой защиты, в т.ч. и биологической (вакцины) острый пастереллез регистрируется крайне редко. Однако широкое распространение приобретает пастереллез, вызываемый пастереллами ослабленной вирулентности. Характерной клинической картиной при этом является респираторный синдром – опухание тканей в области подглазничных синусов, межжелудочного пространства, сережек. Этиологическую роль таких пастерелл можно определить лишь на модели интра-орбитального заражения цыплят первых дней жизни, внутрисинусального и внутривенного заражения кур. Эти модели были ранее разработаны нами и внедрены в лабораторную практику. Характерной особенностью проявления пастереллеза, характеризующегося поражением органов дыхания, равно как и микоплазмоза, является смешанное их течение с другими бактериальными болезнями.

Нами проведен сравнительный анализ микрофлоры, выделяемой при респираторном синдроме птиц. Были проведены бактериологические исследования 311 проб патологического материала. Высевы делали из пораженных тканей в области подглазничных синусов, из межжелудочного пространства, из воспаленных сережек, из мазков и соскобов из трахеи. Часть исследованного материала была получена от птиц, дававших положительную реакцию в ИФА на микоплазмоз, часть на пастереллез, основной материал исследован по выраженной патологии.

Результаты исследований представлены в табл. 2 и на рис. 1.

Таблица 2. Сравнительный анализ микрофлоры, выделяемой при респираторном синдроме у птиц

Вид культур	Количество выделенных культур	Удельный вес, (%)
1	2	3
<i>Escherichia coli</i>	50	36,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	27	19,7
<i>Streptococcus spp.</i>	22	16,1

1	2	3
<i>Proteus vulgaris</i>	16	11,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	5,8
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	6	4,6
<i>Pasteurella multocida</i>	4	2,9
<i>Salmonella enteritidis</i>	4	2,9
Всего	137	

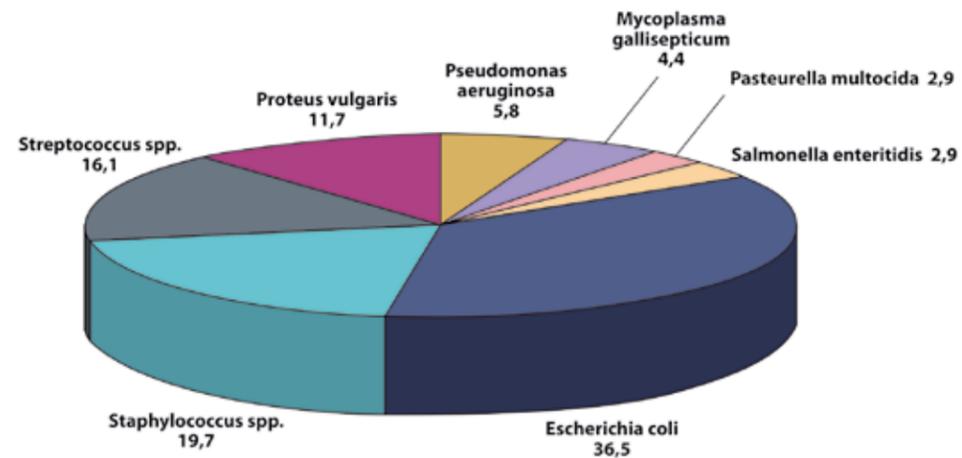


Рис. 1. Спектр микроорганизмов, выделяемых при респираторном синдроме птиц, %

Из представленных данных видно, что микрофлора, выделяемая из мест поражения птиц, представлена 8 видами. Доминирующая микрофлора – *Escherichia coli* и кокковая микрофлора. Следует отметить, что указанные возбудители выделялись не только в ассоциации, в т.ч. и с микоплазмами и пастереллами, но и как монокультуры. Выделение большого количества кишечной палочки и кокковой микрофлоры в определенной степени объясняет низкий % выделения *M. gallisepticum* и *P. multocida* за счет проявления в отношении них антагонистических свойств. Но в то же время эти возбудители (*E. coli* и *St. aureus*) могут самостоятельно вызвать сходную клиническую картину. А при ассоциации их с пастереллами и микоплазмами заболевание протекает в более тяжелой форме с большим процентом поражения поголовья. Нами при экспериментальном заражении была воспроизведена ярко выраженная клиника воспаления подглазничных синусов при введении курам смеси трех культур – *P. multocida*, *E. coli* и *St. aureus* в соотношении 1:1:1 в объеме 0,2 мл (рис. 2 и 3). При заражении в той же дозе монокультурами воспроизвести выраженный синусит не удавалось.

Несмотря на определенные различия в эпизоотологии, биологических свойств возбудителей, обуславливающих особенности патогенеза и специфической профилактики болезней, они имеют много общего, что и позволяет объединить их.

Самое главное, что объединяет эти болезни – сходная клиническая картина. Это создает значительные сложности в диагностике.

Общим для всех этих заболеваний является аэрогенный путь заражения, то есть горизонтальный путь передачи инфекции и выраженная при этом высокая контагиозность. Наиболее высокая контагиозность характерна для респираторного микоплазмоза. Экспериментально доказано, что при напольном содержании один больной цыпленок может заразить 400 здоровых. При клеточном содержании процесс перезаражения микоплазмами происходит медленнее.



Рис. 2



Рис. 3

Подобная закономерность была выявлена нами при разработке математической модели контактного метода воспроизведения пастереллеза в экспериментальных условиях среди 90-дневных цыплят при клеточном содержании. В качестве источника инфекции были использованы цыплята, зараженные возбудителем пастереллеза. При проведении опыта фиксировалась информация о продолжительности инкубационного и клинического периодов больных особей. В результате статистической обработки информации получено достоверное различие в длительности клинического периода у зараженных искусственно культурой *P. multocida* и у заразившихся вследствие контакта – соответственно 13+3 и 23+4. Анализ результатов опыта показал, что развитие инфекции среди птиц внутри клетки определяется в первую очередь инфекционным потенциалом в самой клетке, а передача инфекции между клетками одного яруса сильнее, чем между клетками разных ярусов.

Известно также, что при напольном содержании одна больная пастереллезом индейка может заразить 32 здоровых.

Говоря об аэрогенном как основном пути передачи возбудителей болезней с выраженным респираторным синдромом, необходимо акцентировать внимание на том, что первым технологическим звеном этой цепи является выводной шкаф инкубатория. Наши многолетние наблюдения и исследования подтверждают, что цыплята, выведенные из инкубационных яиц, инфицированных патогенной и условно-патогенной микрофлорой, являются источником инфекции для цыплят, полученных из неинфицированных яиц. Нарастание микрофлоры в воздухе выводного шкафа увеличивается с увеличением % вывода цыплят. На рис. 4 представлен результат, полученный при микробиологическом контроле воздуха выводного шкафа инкубатория в процессе вывода цыплят в хозяйстве, неблагополучном по стафилококкозу: сплошной рост золотистого стафилококка на чашке Петри со стафилококковым агаром. Аэрогенное заражение цыплят на выводе, сопровождается развитием острого бактериального сепсиса, ведущего к гибели цыплят и развитию пневмонии.

У выживших, но инфицированных в процессе вывода цыплят, при выращивании, особенно при воздействии различных стресс-факторов, может впоследствии развиться клиника с характерными признаками респираторного заболевания.

В последние два десятилетия появилось большое количество публикаций зарубежных исследователей о респираторной инфекции птиц, вызываемой *Ornithobacterium rhinotracheale*. Впервые *O. rhinotracheale* были выделены от бройлеров в Южной Африке в 1990 году. Эта инфекция вызвала у птиц угнетение, респираторные симптомы и высокий падеж. Позже орнитобактериоз был зарегистрирован в Северной Америке (США, Канада), в Европе (Австрия, Голландия, Бельгия, Германия, Словения) и в Азии (Япония, Турция).

Заболеванию орнитобактериозом (ОРТ) подвержена в основном мясная птица – индейка и бройлеры. Характерные клинические признаки – резкое угнетение, конъюнктивиты, ка-

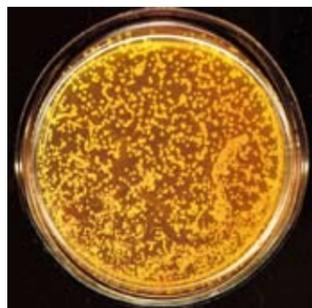


Рис. 4. Рост золотистого стафилококка на чашке Петри со стафилококковым агаром

шель, высокая смертность. Основные патологоанатомические признаки – трахеит, фибринозная пневмония. Наиболее тяжело болеет взрослая птица в возрасте 14–22 недель. Культуры *O. rhinotracheale* выделяют из пораженных легких и из мазков из трахеи.

Отмечено ассоциированное течение орнитобактериоза с другими бактериальными болезнями. В ЮАР от цыплят с клиническим проявлением респираторного синдрома были выявлены 126 культур, из которых 40 составили *O. rhinotracheale*, 14 – *P. multocida*, 64 культуры были идентифицированы как *Haemophilus paragallinarum*. Наиболее тяжелое клиническое проявление и высокая смертность отмечены при смешанном течении орнитобактериоза и ньюкаслской болезни.

На территории РФ выявляют специфические антитела к *O. rhinotracheale* с использованием ИФА.

В диагностическом центре НПП «Авивак» были проведены серологические исследования на наличие антител к возбудителю ORT с использованием диагностических тест-систем и программы IDEXX. Исследовано 223 пробы сыворотки из 4-х птицеводств. Были обнаружены антитела к *O. rhinotracheale* в различных диагностических тестах от отрицательных до положительных и высокоположительных значений (1:15000 и выше). Высокий уровень гуморальных антител был обнаружен у кур-несушек в возрасте старше 200 дней с характерными для ORT клиническими и патологоанатомическими признаками – насморк, чихание, отек и опухание тканей синусов, аэросаккулит, пневмония, снижение яйценоскости.

Обобщая изложенное, можно заключить, что болезни птиц с респираторной клиникой, наиболее часто встречаемая патология, сопровождающаяся большими экономическими потерями. Природа респираторного синдрома полиэтиологична. Многие возбудители бактериальных болезней, вызывающих заболевания дыхательных путей у птиц – *M. gallisepticum*, *P. multocida*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* и хорошо известны. Биологические свойства некоторых – *O. rhinotracheale* – изучены недостаточно.

Все указанные возбудители вызывают аналогичную клиническую и патологоанатомическую картину. В связи с тем, что некоторые из возбудителей бактериальных болезней в определенных условиях снижают вирулентные свойства (пастереллы, кишечная палочка), а другие живут только за счет макроорганизма (микоплазма), отмечены значительные симбиотические объединения их, что усложняет эпизоотическую ситуацию в хозяйстве и затрудняет своевременную диагностику.

Система контроля болезней птиц бактериальной этиологии, сопровождающихся поражением органов дыхания, включает в себя диагностический мониторинг (серологический и микробиологический), микробиологический мониторинг вывода цыплят, эпизоотологический мониторинг выращивания, рациональное применение антибактериальных препаратов, при необходимости – средств специфической профилактики.

Положительный эффект проводимых мероприятий может быть достигнут лишь в комплексном проведении ветеринарно-санитарных мероприятий и при полном соблюдении ветеринарной и зоотехнической технологий выращивания птицы.

Программа обеспечения эпизоотического благополучия птицеводств в отношении бактериальных болезней птиц

Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н. – НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП

Бактериальные болезни занимают существенное место в патологии птиц. Рассматривая особенности течения бактериальных болезней птиц на современном этапе развития промышленного птицеводства следует отметить, что объектом выращивания является высокопродуктивная птица, которая должна быть обеспечена полноценными кормами в необходимых количествах, Программы кормления должны соответствовать полу, возрасту и фазе продуктивности и требованиям разработанным селекционерами. Нельзя забывать, что при увеличении продуктивности происходит снижение резистентности организма птиц и любой негативный фактор может значительно изменить экономические показатели птицеводства в сторону снижения.

Одной из особенностей развитого птицеводства, использования высокопродуктивных кроссов, является изменение вирулентности возбудителей и увеличение количества миксифекции. Все чаще условнопатогенные возбудители становятся причиной значительного отхода молодняка и снижения продуктивности взрослой птицы.

Нестабильная ситуация по бактериальным болезням птиц негативно сказывается не только на эпизоотической ситуации, но и на экономике предприятия. Возбудители бактериальных болезней в отдельности или в ассоциации оказывают существенное влияние на падеж птицы при остром или подостром течении заболевания (пастереллез, колибактериоз, стафилококкоз и другие). При хронических, вялотекущих болезнях бактериальной этиологии отмечают неравномерный или низкий прирост массы бройлеров, повышенную чувствительность к стрессам, снижение яйценоскости и выводимости цыплят, ухудшение биологических качеств эмбрионов, низкую конверсию корма, снижение поствакцинального противовирусного иммунитета. Особенно это характерно при инфекции стада микоплазмами.

Опасность возникновения заболеваний также связана со снижением уровня поствакцинального иммунитета, что влечет за собой экономические затраты на проведение повторных вакцинаций.

Для профилактики бактериальных болезней птиц в промышленном птицеводстве должна быть целостная система контроля, включающая основные мониторинговые исследования, с обозначением основных звеньев технологической цепи, точек критического контроля анализа опасности (НАССР). Схематично система контроля бактериальных болезней птиц может быть представлена следующим образом.

Система контроля бактериальных болезней птиц в птицеводствах

1. Эпизоотологический мониторинг технологического цикла производства
2. Микробиологический мониторинг вывода и выращивания цыплят
3. Диагностический мониторинг:
 - серологические исследования
 - микробиологические исследования (прижизненный метод – бактериологические исследования групповых проб помета, мазки из клоаки)
4. Антибиотикопрофилактика
5. Пробиотикопрофилактика
6. Вакцинопрофилактика
7. Дезинфекция
8. Дератизация



9. Точки критического контроля анализа опасности (НАССР)

- микробиологический контроль за кормами
- контроль за технологическими объектами
- контроль за выходом готовой продукции.

1. Эпизоотологический мониторинг

Основной этап контроля выращивания здоровой птицы – это эпизоотологический мониторинг выращивания цыплят в каждом технологическом звене. Благополучие птицеводств зависит от эпизоотической ситуации в своем регионе, откуда формируется стадо. От наличия и выполнения в хозяйствах «Программы мониторинговых диагностических исследований» в которой должны быть четко указаны на какие инфекции, каким методом и в какие сроки проводить исследования птицы зависит благополучие хозяйства–получателя. Инкубационное яйцо или суточный молодняк следует завозить только из хозяйств свободных от инфекционных болезней.

Необходимо помнить, что многие бактериальные инфекции обладают цикличностью проявления. Инфекция может возникнуть в хозяйстве, затем после проведения комплекса специальных мероприятий исчезнуть, условно говоря, «уснуть» на 3–4 года и затем, в случае каких-либо ветеринарно-санитарных или зоотехнических нарушений проявить себя в более жесткой форме, с наибольшими экономическими потерями для хозяйства.

Особое внимание нужно обращать на показатель сохранности цыплят первых дней жизни, следует ежедневно вести учет падежа птицы, обязательно проводить патологоанатомическое вскрытие павших цыплят и, в случае обнаружения изменений в органах респираторного комплекса, отправлять материал на исследование в лабораторию с целью своевременной постановки диагноза.

2. Диагностический мониторинг

В системе контроля бактериальных болезней своевременная и качественная диагностика, безусловно, имеет приоритетное значение. Диагностика болезни понятие широкое, включающее комплекс или систему данных: эпизоотологических, клиническую картину, патологоанатомические изменения, бактериологические исследования. Одним из составляющих диагностический комплекс являются серологические исследования или серологическая идентификация (СКРА, РНГА, ККРНГА, ИФА, ПЦР).

Развитие молекулярной биологии, генной инженерии позволило предложить для диагностики бактериальных болезней птиц ряд высокочувствительных реакций. Это серологический ELISA–тест или ИФА. Этот метод нашел применение в первую очередь для выявления антител к сальмонеллам (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*) в сыворотке крови птиц и желтке. ИФА применяется также для выявления антител к другим бактериальным возбудителям, в частности к пастереллам и микоплазмам (НПП «АВИВАК»).

Разрабатываются высокочувствительные методы для выявления патогенов в организме птиц и в их продуктах – яйце и мясе – на молекулярном уровне с использованием фрагментов ДНК, РНК для видовой идентификации и для выявления генов вирулентности. Это PCR–метод (полимеразно-цепная реакция). Метод завоевывает в бактериологии все большую популярность, особенно при выявлении возбудителей опасных не только для птиц, но и для человека.

Однако, следует помнить, что весь комплекс профилактических мероприятий должен быть плановым. Необходимо на каждую партию цыплят иметь утвержденную программу диагностических исследований с указанием сроков и методов исследований на каждое заболевание.



Объектами бактериологического контроля в технологическом цикле производства являются:

- трупы птиц всех возрастов
- замершие эмбрионы
- отходы инкубации
- воздух (пух, пыль) выводного шкафа инкубатория в процессе вывода
- комбикорма, вода, смывы с продукции
- свежий помет.

Идентификацию выделенных культур проводят либо по общепринятой методике с использованием МПА, МПБ, кровяного агара и затем для идентификации используют среды Гиса. Также можно использовать элективные и селективные питательные среды. В случае выделения чистых культур идентификацию можно сразу проводить с использованием Пластин биохимических дифференцирующих (ПБДЭ, ПБДС) или Систем индикаторных бумажных дисков (СИБ).

Для бактериологического контроля особенно перспективны методы прижизненной диагностики, в частности исследования групповых проб помета или взятие мазков из клоаки. Это важно для контроля хозяйства по сальмонеллезу и кампилобактериозу. Ценность метода в том, что метод прижизненной диагностики позволяет прогнозировать эпизоотическую ситуацию и использовать его можно как самостоятельно, так и в комплексе с другими диагностическими тестами.

Одной из первоочередных задач контроля бактериальных болезней птиц является совершенствование методов лабораторной диагностики, в том числе разработка и внедрение систем для идентификации выделенной микрофлоры, что особенно ценно для идентификации патогенных и условнопатогенных микроорганизмов.

В ветеринарной науке и практике промышленного птицеводства нашли применение пластины биохимические дифференцирующие энтеробактерии и пластины биохимические для идентификации стафилококков, разработанные Нижегородским НИИ эпидемиологии и микробиологии. Учитывая многообразие кишечных заболеваний, резко возросшую стоимость лабораторных исследований в ряде случаев возможно проведение одновременно морфологической и биохимической индикации широкого спектра аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Для этой цели ННИИЭМ предложены новые диагностические наборы систем индикаторных бумажных (СИБ–6). Они удобны, экономичны и эффективны, позволяют в 3 раза сократить количество анализов, уменьшить количество используемой для исследований лабораторной посуды и питательных сред, снизить затраты времени и труда на постановку диагноза, облегчить и стандартизировать трудоемкий этап идентификации выделенных бактерий.

При микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых условнопатогенными или потенциально-патогенными микроорганизмами – эшерихиями, стафилококками, псевдомонадами, существуют лабораторные показатели, дифференцирующие их от апатогенных микроорганизмов. Это – способность продуцировать токсины, гемолитические свойства, способность индуцировать ферменты патогенности, в частности гиалуронидазу, которая обеспечивает такой фактор патогенности как инвазивность и другие. Одним из факторов патогенности, характерным для кишечной палочки, является ее способность колонизировать эпителиальные клетки кишечника. Определение адгезивных свойств и типа адгезивных антигенов проводят с использованием антиадгезивных сывороток в РА, в иммуноадгезивной гемагглютинации по тесту Д–маннозы. Активность кишечной палочки определяют по среднему показателю адгезии на модели эритроцитов человека О–группы.



Для определения адгезивных свойств эшерихий, выделенных от птиц, нами (в соавторстве со Смирновой Л.И.) разработаны и предлагаются модели, близкие к биологическому типу – эритроциты петуха и эпителиальные клетки трахеи цыплят. Использование этих моделей позволяет выявить большое количество *E. coli*, способных к адгезии на 25–50%.

Важным моментом в определении этиологического фактора бактериального или другого заболевания является определение вирулентных свойств выделенного возбудителя. С этой целью, помимо существующих классических методов определения вирулентных свойств на модели заражения белых мышей, мы предложили и внедрили в практику интраорбитальный метод заражения суточных цыплят и определение вирулентных свойств на модели заражения 7–8 дневных куриных эмбрионов в хориоаллантоисную полость. Эти методы особенно эффективны при определении вирулентных свойств условно-патогенной микрофлоры.

3. Микробиологический мониторинг вывода и выращивания цыплят

Наиболее чувствительны к заражению патогенной и условно-патогенной микрофлорой являются цыплята раннего возраста. Для снижения потерь в этом технологическом звене основное внимание должно быть уделено своевременному сбору полноценного инкубационного яйца от благополучного по инфекционным заболеваниям стада несушек, а также своевременной и качественной его дезинфекции, качеству дезинфекции инкубатория. Особое внимание следует обращать на схему антибактериальной профилактики с первого дня посадки цыплят на выращивание, т.к. неправильный подбор препаратов и схем применения провоцирует проявление заболеваний, вызываемых условно-патогенной микрофлорой.

Поскольку все бактериальные болезни передаются с яйцом, либо трансвариально (микоплазмоз, пуллороз и др.), либо за счет контаминации скорлупы и последующего всасывания поверхностной микрофлоры в подскорлупные оболочки, существенным в профилактике бактериальных болезней птиц является качественная подготовка инкубационных яиц и контроль за инкубацией. Радикальным технологическим звеном в профилактике бактериальных болезней птиц и возможном их распространении является инкубаторий, и именно завершающее звено инкубации – выводной инкубатор. Выводной шкаф инкубатория является одним из основных энергобиологических узлов промышленного птицеводства, так как в процессе инкубации происходит увеличение микробного потенциала до критических размеров. Выводной шкаф инкубатория – уникальное звено в технологии промышленного птицеводства как минимум по 6 параметрам:

- самая высокая концентрация поголовья;
- только в выводном шкафу инкубатория взаимодействуют оба пути передачи инфекции – вертикальный и горизонтальный;
- аэрогенное заражение цыплят на выводе – это всегда острый сепсис, сопровождающийся падежом цыплят в первые дни жизни. Единственным патологоанатомическим признаком при этом является острая катаральная пневмония;
- только в выводном шкафу инкубатория совпадают оптимальные условия по температуре и влажности как для биологического объекта (эмбрион – цыпленок), так и для его врага – патогенной и условно-патогенной микрофлоры;
- по микрофлоре, выделяемой в выводном шкафу в процессе вывода цыплят возможен контроль бактериальных болезней и их прогноз;
- в выводном шкафу инкубатория возможна первая прижизненная профилактика.

Нами разработаны Рекомендации «Микробиологический мониторинг вывода и выращивания цыплят» и предложен метод аэрозольной обработки цыплят в выводном шкафу эффективными дезинфектантами, в частности, катаполлом, для снижения бактериальной инфицированности цыплят на выводе.



4. Антибиотикопрофилактика

Существенным этапом профилактики бактериальных болезней является выбор эффективных антибиотиков для применения с первого дня выращивания цыплят. Контролем эффективности их применения является учет динамики поднежного падежа цыплят и учет частоты встречаемых патологоанатомических признаков, характерных для острого бактериального сепсиса, в частности изменения в легких. Применение эффективных антибиотиков следует проводить с учетом установленной чувствительности к культурам, выделенным в хозяйстве.

Отдельного внимания требует антибиотикопрофилактика микоплазмоза, поскольку микоплазма является особым представителем микромира, так как занимает промежуточное положение между микробами и вирусами. Главное отличие микоплазм от микробов – это отсутствие выраженной клеточной стенки. Этим обусловлена еще одна биологическая особенность микоплазм, а именно микоплазма является внутриклеточным паразитом. Поэтому при проведении антибиотикопрофилактики микоплазмоза необходимо учитывать следующие принципы:

1. Нельзя применять антибиотики, принципом действия которых является ингибирование клеточной стенки, так как микоплазмы генетически резистентны в отношении антимикробных средств, влияющих на синтез структурного элемента клеточной стенки – пептиногликана.
2. Выбор должен основываться на препаратах, угнетающих синтез белка. Это антибиотики из группы макролидов (тилан, тилозин тартрат, эритромицин, спирамицин, линкомицин), антибиотики тетрациклиновой группы (окситетрациклин, хлортетрациклин).
3. Могут быть использованы антибиотики, влияющие на синтез ДНК микробов (норфлоксацин, энрофлоксацин, энротил и др.).

Конечно, каждый препарат должен применяться с учетом его чувствительности к микоплазмам, выделяемым в хозяйстве. Это три основных принципа по выбору препарата.

Существует также несколько принципиальных положений по применению антибиотиков, которые основываются на знании патогенеза микоплазмоза:

1. Эффективное применение антибиотиков может быть только раннее либо с профилактической целью, либо на ранней стадии заражения микоплазмами, чтобы возможно было предупредить поражение респираторного тракта и развитие вторичной бактериальной инфекции, т.е. с первого дня выращивания цыплят.
2. Лечение должно быть проведено повторно через 3–4 недели (однократно).
3. Должны быть учтены фармакокинетические свойства препаратов, которые обеспечили бы необходимый уровень и устойчивость их в тканях-мишенях – респираторный тракт, репродуктивные органы, инкубационные яйца.
4. Для предупреждения трансмиссии микоплазм через инкубационное яйцо эффективный антибиотик следует задавать несушкам не менее 8 дней подряд. Только это обеспечивает концентрацию препарата в яйце (на уровне избытка резистентности) для большинства штаммов *M. gallisepticum*.
5. Комбинированное применение антимикоплазменных и антибактериальных препаратов для профилактики вторичных бактериальных инфекций.
6. Корректировка схемы применения антибиотиков под контролем гемограммы.

Анализ результатов использования антимикоплазменных препаратов под контролем гемограммы позволяет своевременно оценить эпизоотическую ситуацию хозяйства по микоплазмозу, предложить эффективную ветеринарно-технологическую систему мероприятий и предотвратить экономический ущерб от респираторных болезней птиц.

Однако, наиболее экономически оправданным является применение средств специфической профилактики с использованием инаktivированных вакцин.



5. Пробиотикопрофилактика

Следует иметь в виду, что широкое применение антибиотиков, особенно бессистемное с нарушением доз и схем не только неэффективно, но и наносит существенный ущерб за счет развития антибиотикорезистентности и, следовательно, сокращения выбора антибиотиков. Кроме того, широкое использование антибиотиков в птицеводстве, как в одной из составляющих отрасль животноводства, привело к переносу антибиотикорезистентности от штаммов микроорганизмов животного происхождения к микроорганизмам человеческой популяции, следствием чего явилось сокращение выбора антибиотиков для людей, что в ряде случаев привело к росту заболевания людей, как это было несколько лет назад при заболевании детей, вызванном *S. typhimurium*. Кроме того, накопленные в организме животных и птиц, а также в их продуктах антибиотики способствуют проявлению аллергии у людей и в первую очередь, у детей.

Поэтому, естественно, возникла необходимость изучения альтернативных путей профилактики бактериальных болезней с использованием экологически чистых препаратов с целью получения максимального выхода чистой продукции и улучшения микробиоценоза организма птиц. Таким направлением стало создание и применение пробиотиков в птицеводстве.

Общеизвестно, что у здоровых животных и птиц в кишечнике наблюдается динамический баланс между полезной и условнопатогенной микрофлорой с многочисленными симбиотическими и конкурентными взаимоотношениями между ними, что обусловлено селективным давлением внутренней среды кишечника. При этом происходит химическая селекция ингибирующими агентами (жирные кислоты, желчь, лизоцим и др.) и механическая селекция за счет очистительного эффекта перистальтических движений. Избежать механической эвакуации популяция бактерий может двумя способами: путем прикрепления (адгезии) микробных клеток к стенкам кишечника и за счет высокой популяционной скорости размножения, превышающей скорость удаления из кишечника. В результате взаимодействия двух разнонаправленных факторов очищения и приспособления формируется комплексная микрофлора, стабильность которой является залогом резистентности организма животных (птиц). Этот феномен называют по-разному: бактериальный антагонизм, бактериальная интерференция, барьерный эффект, колонизационная резистентность, конкурентное исключение. Микрофлора пищеварительного тракта птиц соответствует особенностям его строения. Эпителий зоба имеет специфическое чешуйчатое строение, к которому адгезивны биотины лактобацилл, обладающие высокой амилазной активностью. Они обеспечивают защиту против патогенных бактерий. При истощении лактобацилл зоба антибиотиками увеличивается количество колиформ. Железистый желудок у птиц имеет мощные мышечные стенки и донные железы в системе кармашков, что создает видимость слюнных желез. В тонком кишечнике преобладает микрофлора с амилитической активностью. В толстом кишечнике преобладают бифидобактерии и неспорообразующие грамположительные бактерии. В фекалиях здоровых индюков обнаружены *Str. faecalis*, *Str. equinus*, бифидобактерии и *L. acidophilus*. Исходя из этого предлагается целый ряд пробиотиков для птицеводства. Одной из первых была разработана концепция скормливания цыплятам смеси культур нормальной микрофлоры, выделенной от здоровых взрослых кур. Предполагается, что такая смесь микробов помимо основной функции – заселения слизистой оболочки кишечника, несет в себе также информацию «здоровья». Одним из первых был предложен ВНИВИПом *Str. faecium* СТФ-56. Препарат эффективно применяется и поныне. Рационально применять пробиотики, или конкурентную микрофлору, после лечения антибиотиками и при технологическом переводе в стадо, особенно цыплят в реммолодняк.

Есть концепция применения пробиотиков с первого дня выращивания цыплят. Это возможно при высоком ветеринарно-санитарном уровне ведения птицеводства и при полном эпизоотическом благополучии. Однако в этом случае пробиотики лучше применять не с первого дня, а раньше в выводном инкубаторе при наклеве, либо сразу после выборки. В этом



направлении есть опыт работы Братцевской птицефабрики с иммунобаком и в Брянской ГСХА (Бовкун Г. Ф.) с препаратом биофинорм.

6. Специфическая профилактика

По выработке стратегии профилактики и борьбы с бактериальными болезнями птиц необходимо учитывать факторы патогенности бактерий, которые можно разделить на 3 основные группы – факторы патогенности с адгезивной, инвазивной и токсигенной функциями. На разных стадиях инфекционного процесса действуют различные факторы патогенности. В начальной стадии – это инвазивность и адгезия. На заключительных стадиях болезни существенная роль принадлежит бактериальным токсинам.

При этом адгезивная и инвазивная функции обеспечивают внедрение возбудителя в организм хозяина и действуют в начальной стадии инфекционного процесса, токсигенная – обеспечивает синдром заболевания и летальный исход.

Каждый возбудитель обладает определенным набором факторов патогенности, что обеспечивает развитие специфического инфекционного процесса. Инвазивность – способность микроорганизмов с помощью ферментов патогенности, в первую очередь гиалуронидазы, разрушать основной структурный элемент соединительной ткани – гиалуроновую кислоту, и таким образом проникать в межклеточное и в межтканевое пространство. Микроорганизмы, обладающие фактором инвазивности, вызывают заболевания, развивающиеся по типу сепсиса (пастереллез, колисептицемия, сальмонеллез, стафилококкоз и др.). Нами разработан метод ингибирующей терапии, основанный на применении препаратов, одна из сторон механизма действия которых направлена на ингибирование гиалуронидазы (карбамид, катапол).

Фактор патогенности с токсигенной функцией является ответственным за формирование патологического синдрома. Практически все микроорганизмы, способные вызывать заболевание с летальным исходом (сальмонеллы, эшерихии, стафилококки, псевдомонады) обладают токсигенными свойствами. Препараты, используемые для снятия синдрома, это, во-первых, антибактериальные препараты – антибиотики, сульфаниламиды и другие химиопрепараты, сорбенты, а также анатоксины и антитоксические сыворотки. Нами получен нативный стафилококковый анатоксин и предложены схемы его применения.

Значительные трудности возникают при разработке средств борьбы с возбудителями условно-патогенных бактерий. Наиболее типичным из них является возбудитель колибактериоза. В обычных условиях эшерихии, как правило, не вызывают развития инфекционного процесса, патогенный генотип этих бактерий может реализоваться либо у птиц с ослабленным физиологическим развитием, иммунной системой, либо при воздействии на организм комплекса различных стресс-факторов.

Механизм патогенности эшерихий определяется способностью вырабатывать энтеротоксины – термолабильный, термостабильный или оба токсина одновременно. У цыплят заболевание вызывают те энтеротоксигенные кишечные палочки, которые обладают одновременно и фактором колонизации (адгезии). Наиболее эпизоотически опасными являются культуры эшерихий, способные продуцировать цитотоксины. Такие культуры, способны в короткие сроки размножиться в легочной ткани, вызывать острую катаральную пневмонию.

Принцип профилактики бактериальных болезней, вызываемых микроорганизмами, обладающими выраженными адгезивными свойствами (кишечная палочка, сальмонеллы и др.) основан на опережающем заселении желудочно-кишечного тракта нормальной микрофлорой. С этой целью широко применяются пробиотики – биологические препараты, представляющие собой стабилизированные культуры симбионтных микроорганизмов или продукты их метаболизма, богатые факторами роста. Это препараты нового поколения, содержащие живые молочнокислые, пропионовокислые, бифидо- и другие бактерии, стрептококки, препятствующие росту и развитию патогенной и условно-патогенной микрофлоры и поддержи-



вающие нормальный биоценоз кишечника. Пробиотикотерапия – обязательное условие для поддержания нормального биоценоза кишечника птицы в замкнутых, перенасыщенных популяциях птицекомплексов и повышенной циркуляцией патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

С изучением факторов патогенности микроорганизмов и типа инфекционного процесса бактериальных болезней птиц связана стратегия создания средств специфической профилактики. Это должны быть комплексные препараты, обеспечивающие специфическую защиту как на антиинфекционном, так и на антитоксическом уровнях.

Основной принцип подбора средств борьбы с колибактериозом включает специфические и неспецифические методы. Сложности в разработке и эффективном использовании средств специфической профилактики связаны с разнообразием рода *Escherichia*, по соматическому антигену описано около 180 серологических групп, поэтому предложить эффективный препарат специфической защиты на основе соматических антигенов невозможно.

Использование вакцин, изготовленных с учетом биологических особенностей возбудителя на основе адгезивных антигенов и анатоксинов создает реальные предпосылки для создания системы профилактики.

Принципы конструирования вакцин нового поколения должны быть разработаны с учетом биомолекулярных основ патогенности бактерий.

Нами подобраны штаммы пастерелл, эшерихий, сальмонелл обладающих выраженными биологическими свойствами. Разработаны инактивированная сорбированная и инактивированная эмульсионная вакцина против пастереллеза, колибактериоза птиц, обладающие выраженными протективными свойствами в отношении пастерелл и эпизоотически опасных штаммов эшерихий независимо от их серологической принадлежности и региона выделения.

Однако, использование моновалентных вакцин затруднено из-за необходимости соблюдения интервалов между отдельными вакцинациями. Применение ассоциированных вакцин позволяет создать необходимый иммунитет, по крайней мере – к двум инфекциям в более короткие сроки. Кроме того, комбинирование антигенов может способствовать повышению иммуногенных свойств одного, либо каждого из антигенов и создает условия для оптимизации антигенных нагрузок на организм птицы. Нами предложен и ассоциированный вариант инактивированной вакцины против колибактериоза и пастереллеза птиц. Вакцина с положительным эффектом прошла испытания в производственных условиях.

Существенная роль в борьбе с бактериальными болезнями птиц принадлежит этиотропной терапии, т.е. подбору наиболее эффективных препаратов неспецифической защиты. Основой терапевтического действия антибактериальных препаратов является подавление жизнедеятельности возбудителя инфекции. Однако следует помнить, что бесконтрольное применение антибиотиков может привести к выработке микроорганизмами резистентности и полирезистентности к антибиотикам. Поэтому, прежде чем применять антибиотики, необходимо проверить чувствительность выделенной микрофлоры к той или иной группе препаратов. Кроме того, антибиотики оказывают отрицательное влияние на обменные процессы и иммунную систему макроорганизма.

В заключении следует отметить, что эффективная программа профилактики бактериальных болезней птиц может быть создана только при комплексном подходе ветеринарных специалистов птицевладельцев к решению данной проблемы, с учетом биологических особенностей возбудителя, эпизоотической ситуации в хозяйстве и четко отлаженной системы ветеринарно-санитарных и зоотехнических мероприятий.

Говоря о вакцинопрофилактике в птицеводстве следует обязательно иметь в виду, что эффективна она будет лишь в комплексе всей системы ветеринарно-санитарных и технологических мероприятий.



7. Дезинфекция

В промышленном птицеводстве в системе ветеринарно-санитарных профилактических мероприятий дезинфекция объектов производства, инкубационного яйца и воздушной среды в присутствии птицы имеет существенное значение. Имеется большой перечень эффективных дезинфекционных средств, схем и методов их применения. Однако, поиск дезинфектантов продолжается. Одним из существенных моментов создания новых дезинфицирующих препаратов является не только их высокая эффективность, но и экологическая чистота.

Нами испытан и внедрен в ветеринарную практику катапол – препарат из группы ПАВ. Препарат безвреден и высокоэффективен против грамотрицательной и грамположительной микрофлоры. Аэрозольное применение 1% раствора катапола на выводе и птичниках в присутствии птицы позволяет значительно снизить микробное давление и повысить сохранность на 0,5–1,5%.

Хороший эффект дает Виркон-С – препарат, предложенный фирмой КРКА (Словения). Препарат представляет собой сбалансированную, устойчивую смесь пероксидазных соединений, сульфата, органических кислот и неорганической буферной системы. Обладает антикоррозийными свойствами.

Во НИИМ МО РФ (г. Киров) создан препарат «Пемос-1» – дезинфицирующее средство, в состав которого входят следующие компоненты: перекись водорода (5,9–10,0%), молочная кислота (1,0%), сульфанола (0,3%) и водопроводная вода до 100,0%. Препарат обладает широким спектром действия в отношении бактерий, вирусов и грибов. По уровню острой токсичности относится к 4-му классу малоопасных соединений, экологически безопасен, так как основными продуктами его распада являются вода и кислород.

Нами проведено испытание «Пемос-1» в условиях двух птицефабрик Саратовской области, одна из которых специализируется по производству мяса бройлеров, другая – по производству яйца. Препарат показал высокую эффективность при обработке инкубационного яйца, выводных шкафов, выводного зала.

8. Дератизация

Дератизация является одним из существенных моментов профилактики бактериальных болезней птиц, так как крысы являются биологическим резервуаром и переносчиками патогенных для птиц микроорганизмов, в частности пастерелл и сальмонелл, и патогенных для людей, в том числе возбудителей особо опасных инфекций. Своевременная и качественная дератизация – одно из необходимых составляющих системы контроля бактериальных болезней.

В заключении еще раз хочется обратить внимание на факторы, обеспечивающие эпизоотическое благополучие птицевладельцев при соблюдении ветеринарно-санитарного режима работы хозяйства:

- соблюдение зоотехнологических параметров
- использование для инкубации яйца от благополучных стад
- посадка на выращивание молодняка из благополучных хозяйств
- система контроля бактериальных болезней:
 - диагностический мониторинг, в т.ч. прижизненные методы (мик. исследования групповых проб помета, мазков из трахеи)
 - своевременный сбор и дезинфекция инкубационного яйца
 - микробиологический мониторинг вывода
 - эпизоотологический мониторинг выращивания
 - контроль применения лекарственных препаратов
- контроль благополучия по вирусным заболеваниям
- диагностический мониторинг



- обеспечение высокого уровня естественной резистентности
- биозащита.

9. Точки критического контроля анализа опасности (НАССР)

НАССР – анализ рисков заражения пищевой продукции применительно к каждому технологическому процессу. На протяжении всей технологической цепи производства кормов, начиная с периода вегетации кормовых культур или начального этапа переработки побочных продуктов мясо- и рыбперерабатывающей промышленности, и до поступления готового корма в кормушки, происходит непрерывный процесс его обсеменения микрофлорой. В том числе возможно и патогенной. Наиболее опасно с точки зрения здоровья не только непосредственно птиц, но и человека заражение кормов *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Clostrida* через птицу и ее продукты. Наибольшую опасность представляет контаминация кормов сальмонеллами. По данным, приведенным фирмой Кемин, из 19644 проанализированных в 1977 году образцов источников животных белков, произведенных перерабатывающими предприятиями США, 26% оказались инфицированными сальмонеллой. При этом обследовано было 95% производителей. Мониторинг, проведенный в 1996 году в Нидерландах на 5200 образцах кормового сырья показал зараженность сальмонеллой 3,3% растительных источников протеина; 17,2% рапсового шрота; 2,0% соевого шрота; 6,2% животных источников протеина; 6,2% мясо-костной муки; 13,5% рыбной муки.

Существует несколько способов обеззараживания кормов:

- Гранулирование
- Экструдирование (тепловая обработка)
- Обработка антибактериальными препаратами.

Два первых метода безусловно эффективны. Однако, не предотвращают повторной контаминации. Гарантированно может предохранить корма от заражения условно-патогенной и патогенной микрофлорой лишь обработка антибактериальными препаратами. Это могут быть комплексные препараты, представляющие тщательно подобранную смесь органических кислот и их солей, а также антиокислитель бутилгидроксианизол, который характеризуется высокой бактерицидностью, и их отдельные препараты на базе муравьиной кислоты или муравьиного альдегида или молочная, лимонная. Это можно добавлять к компонентам кормов или к готовому продукту.



- **Ветеринарные препараты для птиц**
- **Дезинфектанты и инсектициды**
- **Витамины, минералы**
- **Кормовые добавки**
- **Системы мониторингового контроля за микроклиматом**
- **Оборудование для аэрозольной дезинфекции**
- **Система гигиенического контроля микробной чистоты**
- **Оборудование для ИФА-лабораторий**
- **Тест-системы для ИФА-диагностики**
- **Ветеринарное сопровождение**



191167, Россия, г. Санкт-Петербург,
Херсонская ул., д. 39, лит. А., офис 4-01,
БЦ «Александровский»
Тел. +7 (812) 611-08-90
Факс +7 (812) 611-08-91



ЦЕНТР ВЕТЕРИНАРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ –
официальный партнёр
НПП АВИВАК, ВЮСНЕМ, КРКА



НПП «АВИВАК»

**гарантия здоровья
Вашей птицы**

АВИВАК-САЛЬМОВАК

**ПРОФИЛАКТИКА
САЛЬМОНЕЛЛЕЗА
ПТИЦ**



188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
Тел.: (812) 346-58-54, 346-58-53
Факс: (812) 703-11-52
E-mail: AVIVAC@sovintel.ru

105120, Москва,
3-й Сыромятнический пер., д. 3/9
Тел.: (495) 785-18-01 (многоканальный)
E-mail: AVIVAC@list.ru

WWW.AVIVAC.COM

**ВАКЦИНА ПРОТИВ
САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ПТИЦ,
ИНАКТИВИРОВАННАЯ**

ВАКЦИНЫ СЕРИИ «АВИВАК» – ГАРАНТИЯ ЗДОРОВЬЯ ВАШЕЙ ПТИЦЫ



Следующей критической точкой опасности могут быть определены все помещения цикла производства – инкубаторий, птичники, кормоцех и др. Особое внимание необходимо обратить на убойный цех, утильцех, вскрывочную. Все эти помещения должны быть обеспечены защитой, гарантирующей «невынос» инфекции и полную санацию от возбудителей болезней. И, естественно, самым ответственным моментом является контроль за выходом продукции. В первую очередь контроль на сальмонеллы. Если на убой попала птица, инфицированная сальмонеллами, то в этом цикле производства существует опасность контаминации продукции на выходе.

Имеются данные о том, что наибольшее обсеменение тушек происходит при потрошении – до 41,4%, при охлаждении тушек в ванне – 25%, при сортировке через руки сортировщиц – 38,5%–33,3%. Это данные Всероссийского НИИ птицеперерабатывающей промышленности. Коллективом этого института разработаны утвержденные инструктивные документы, рекомендации по мерам защиты в боенском производстве продукции на выходе от возможной контаминации патогенной микрофлорой. Для снижения перекрестного заражения, но не тотального уничтожения сальмонеллами тушек птиц воду в ваннах тепловой обработки рекомендуется подщелачивать до pH–9,0 или подкислять до pH–2,0 перед охлаждением. Рекомендуется также для снижения перекрестного обсеменения микрофлорой хлорировать воду в ваннах охлаждения (20–40 мг/л активного хлора), а для снижения микробной обсемененности и уничтожения сальмонелл на тушках птицы охладить их в ваннах в ледяной воде с содержанием 0,05–0,1% надуксусной кислоты. Хранить продукты птицеводства в холодильных камерах при t не выше +2...+6° С.

В заключении еще раз следует отметить, что высокопродуктивная птица требует к себе большого внимания со стороны ветеринарной и зоотехнической службы. Птица отселекционированная на высокую продуктивность требует выполнения всех рекомендаций селекционеров, даже незначительные отклонения от рекомендаций по содержанию и выращиванию птицы могут вызвать резкие негативные последствия для ее здоровья.

Программа профилактики и оздоровления хозяйств от Salmonella enteritidis – инфекции птиц

Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н.; Новикова О. Б.; Жук И. П.; Байбиков Ю. И. –
НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП

По заключению экспертов Всемирной организации здравоохранения (1991 год), сальмонеллез как зооантропонозная инфекция не имеет себе равных по сложности эпизоотологии, эпидемиологии и трудностям борьбы с ним. Одной из причин этого является многообразие (>2300) серовариантов сальмонелл.

Продолжающийся рост заболеваемости сальмонеллезом во многих странах, увеличение числа серовариантов сальмонелл, обнаруживаемых у птиц, животных и у людей, значительная контаминация сальмонеллами пищевых продуктов животного происхождения и объектов внешней среды, выдвигают эту инфекцию в ряд важнейших не только ветеринарных, но и медико-экологических и социальных проблем.

Наблюдаемые изменения в этиологической структуре сальмонеллезом обязывают уделять особое внимание изучению биологических свойств возбудителей, без учета которых невозможно прогнозировать развитие эпидемического и эпизоотического процессов и разрабатывать эффективные меры по снижению заболеваемости сальмонеллезом.

Для промышленного птицеводства решение проблемы сальмонеллезов имеет особое значение, так как именно эта отрасль производит диетическую, легко усвояемую продукцию. Заболевание птицы сальмонеллезом часто протекает бессимптомно. Сальмонелла, являясь обитателем кишечника, может контаминировать скорлупу яиц и тушки птицы при убое, часто при неправильном хранении и некачественной переработке может привести к тяжелому заболеванию людей.

В последние полтора десятилетия этиологическая структура сальмонеллезов птиц также значительно изменилась: резко снизилась циркуляция хозяин-адаптированных сальмонелл *Salmonella gallinarum-pullorum*, и увеличилось количество хозяин-неадаптированных к организму птиц сальмонелл – *S. haifa*, *S. virchov*, *S. dublin* и других. Наибольший удельный вес выделения от птиц и из птицепродуктов приходится на *Salmonella enteritidis*. По данным зарубежных исследователей удельный вес *Salmonella enteritidis* заболевания людей составил в одной из стран ЕС (Бельгия) – 63,58%. Наблюдается определенная адаптация *S. enteritidis* к организму птиц, что нашло отражение в санитарных и ветеринарных правилах «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных» (1996). В этой связи усовершенствование системы контроля сальмонелла-энтеритидис – инфекции птиц, т.е. разработка программы профилактики и оздоровления хозяйств от этой инфекции, объективно обосновано.

Предлагаемая нами система контроля сальмонелла-энтеритидис инфекции включает в себя основные мониторинговые диагностические исследования по всей технологической цепи производства, мониторинг вывода, применение эффективных препаратов специфической и неспецифической профилактики, выявление, а также акцентирование внимания на точках критического анализа опасности (НАССР).

1. Диагностический мониторинг

Включает серологические и микробиологические исследования. В системе контроля бактериальных болезней своевременная и качественная диагностика, безусловно, имеет приоритетное значение. Диагностика болезни – понятие широкое, включающее комплекс или систему данных: эпизоотологических, клиническую картину, патологоанатомические изменения, бактериологические исследования. Одним из составляющих диагностического комплекса являются серологические исследования.

Микробиологический диагностический мониторинг основан на проведении как постморальных, так и прижизненных бактериологических исследований. Необходимо исследовать следующие биологические объекты: эмбрионы-задохлики, трупы цыплят и кур всех технологических возрастов.

Прижизненный диагностический микробиологический мониторинг включает исследование проб мекония, групповых проб свежего помета от цыплят всех возрастов и кур.

Особое внимание должно быть уделено микробиологическому контролю вывода цыплят – исследованию воздуха выводных шкафов инкубатория.

С целью контроля *Salmonella enteritidis* инфекции птиц нами проведен микробиологический мониторинг в трех хозяйствах, два из которых специализируются по производству мяса бройлеров (хозяйства №№ 1, 2) и одна птицефабрика – по производству яйца (хозяйство №3). Удельный вес сальмонелл в спектре выделенной микрофлоры при исследовании трупов цыплят разных возрастов и кур представлены на рис. 1–3. Удельный вес сальмонелл в спектре микрофлоры, выделенной из помета цыплят и взрослых кур (хозяйства №№ 1 и 3) представлен на рис. 4 и 5.

Из полученных нами данных видно, что удельный вес *S. enteritidis* в спектре выделенной из трупов микрофлоры высокий – 14,89–26% в бройлерных хозяйствах и 42,2% – в хозяйстве по производству яиц. При этом следует отметить, что сохранность птицы в хозяйстве

по производству яйца была достаточно высокой, возбудитель выделен только от взрослой птицы, которая не болеет сальмонеллезом. *S. enteritidis* из помета в хозяйствах № 1 и № 3 выделена в 26,1% и 5,3% случаев соответственно. Выделение *S. enteritidis* из помета указывает на опасность возможной контаминации скорлупы яиц и в силу физико-механических законов проникновения ее в подскорлупные оболочки.

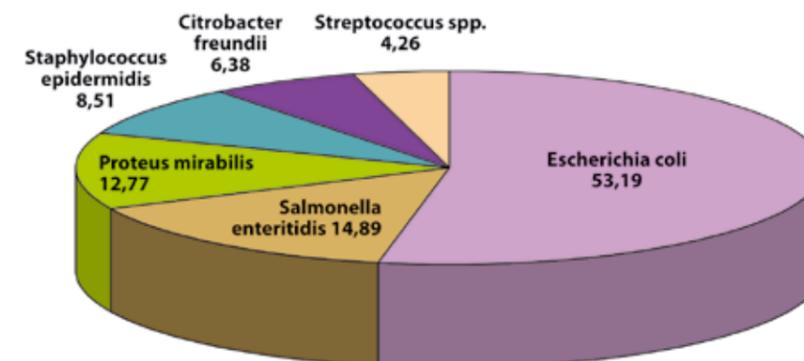


Рис. 1

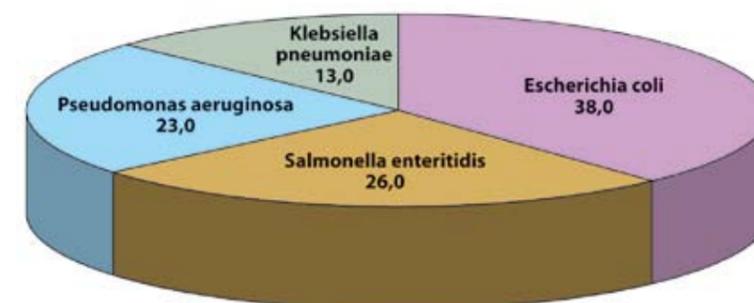


Рис. 2

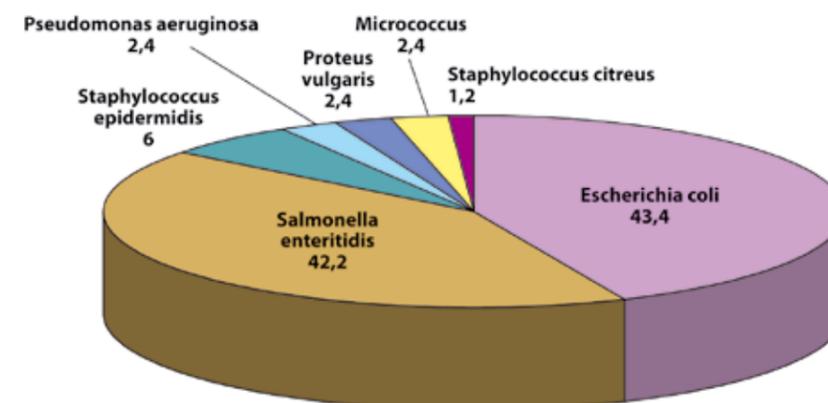


Рис. 3

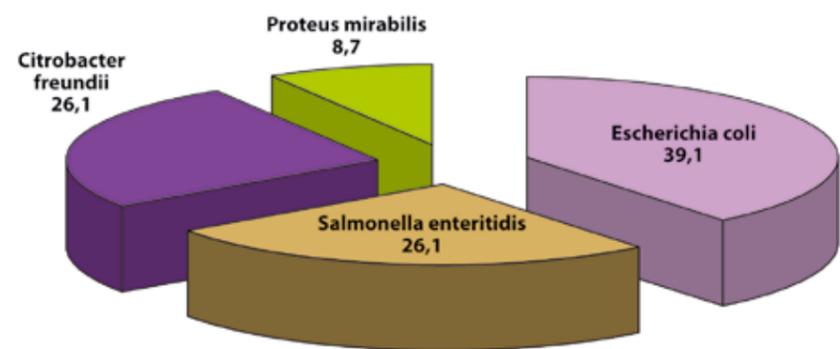


Рис. 4

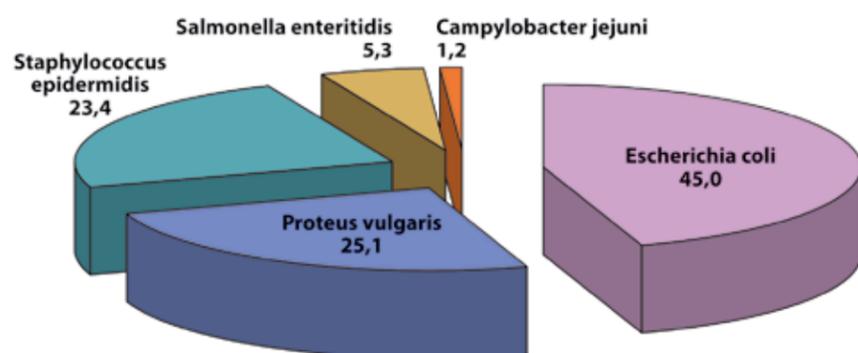


Рис. 5

Особое внимание при проведении микробиологического мониторинга следует уделять органу, из которого выделяется возбудитель. Наши данные (суммированные) представлены на рис. 6. Из него видно, что наибольший процент выделения *S. enteritidis* приходится на сердце, печень, легкие (38,8%, 30,4%, 26% соответственно), что указывает на развитие септического процесса, сопровождающегося развитием катаральной пневмонии и катарально-геморрагическим дуоденитом (рис. 7, 8). Выделение сальмонеллы из яичных фолликул (2,2%) указывает на возможный трансвариальный путь передачи инфекции.

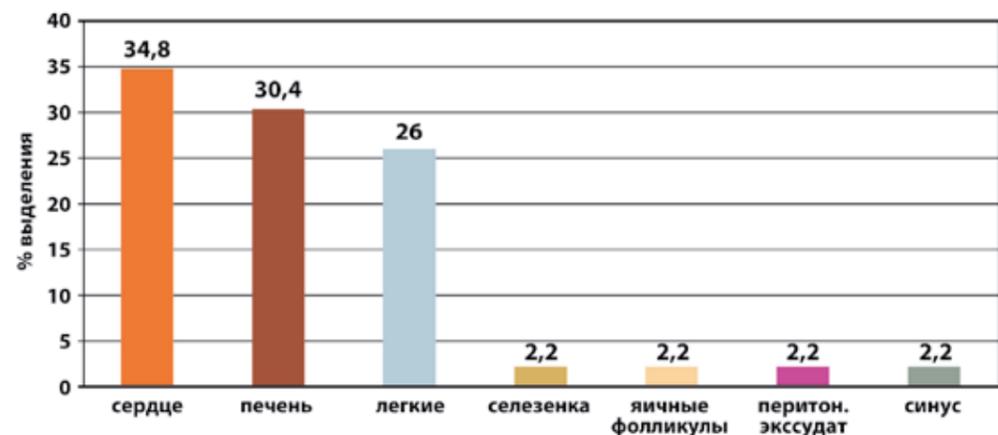


Рис. 6



Рис. 7. Катаральная пневмония цыплят в сравнении с легким здорового (контрольного) цыпленка



Рис. 8. Геморрагический дуоденит цыплят в сравнении с двенадцатиперстной кишкой здорового (контрольного) цыпленка

Говоря о мониторинговых диагностических исследованиях, необходимо иметь в виду, что в последнее десятилетие для выявления сальмонелл в организме птиц и в их продуктах – яйце и мясе – на молекулярном уровне разрабатываются высокочувствительные методы с использованием фрагментов ДНК, РНК для видовой идентификации и для выявления генов вирулентности. Это ПЦР – метод. Метод завоевывает в бактериологии все большую популярность, особенно при выявлении возбудителей опасных не только для птиц, но и для человека.

2. Микробиологический мониторинг вывода и выращивания цыплят

Сальмонеллез, вызываемый *S. enteritidis* передается вертикальным путем с яйцом, либо за счет контаминации скорлупы и последующего всасывания поверхностной микрофлоры в подскорлупные оболочки, либо трансвариально и горизонтально при заражении на выводе, либо через контаминированный корм. Некоторые исследователи считают, что вертикальная передача *S. enteritidis* является наиболее важной, поскольку этот серовариант обладает фимбриями, благодаря которым возбудитель может колонизировать слизистую оболочку репродуктивных органов. Поэтому существенным в профилактике бактериальных болезней птиц является качественная подготовка инкубационных яиц и контроль за инкубацией. Радикальным технологическим звеном в профилактике бактериальных болезней птиц и возможном их распространении является инкубаторий, и именно завершающее звено инкубации – выводной инкубатор. Выводной шкаф инкубатория является одним из основных энергобиологических узлов промышленного птицеводства, так как в процессе инкубации происходит увеличение микробного потенциала до критических размеров. Выводной шкаф инкубатория – уникальное звено в технологии промышленного птицеводства как минимум по 6 параметрам:

- самая высокая концентрация поголовья;
- только в выводном шкафу инкубатория взаимодействуют оба пути передачи инфекции – вертикальный и горизонтальный;
- аэрогенное заражение цыплят на выводе – это всегда острый сепсис, сопровождающийся падежом цыплят в первые дни жизни. Единственным патологоанатомическим признаком при этом является острая катаральная пневмония;
- только в выводном шкафу инкубатория совпадают оптимальные условия по температуре и влажности как для биологического объекта (эмбрион – цыпленок), так и для возбудителя;
- по микрофлоре, выделяемой в выводном шкафу в процессе вывода цыплят, возможен контроль бактериальных болезней и их прогноз;
- в выводном шкафу инкубатория возможна первая профилактика бактериальных болезней.



Более подробно этапы работы описаны в Рекомендациях по проведению микробиологического мониторинга вывода и выращивания цыплят.

3. Эпизоотологический мониторинг технологического цикла производства и антибиотикопрофилактика

Следующий этап контроля – это эпизоотологический мониторинг выращивания цыплят в возрасте 1–30 дней. Существенным при этом является изучение подневной динамики падежа, особенно в первые 7–10 дней. В эти сроки падеж является, как правило, следствием вывода, если патоген, в частности, *S. enteritidis* и другие серовары сальмонелл контаминировали воздух выводного шкафа инкубатория в случае инкубации инфицированных сальмонеллами яиц.

При вскрытии павших цыплят следует учитывать частоту встречаемых патологоанатомических признаков. Это, как правило, признаки острого сепсиса – острая катаральная пневмония, геморрагический дуоденит. При контаминации инкубационных яиц другой патогенной или условно-патогенной микрофлорой – патологоанатомические признаки респираторного синдрома (аэросаккулиты), а также признаки бактериального сепсиса – перикардит, перигепатит, перитонит и др.

Применение антибактериальных препаратов – один из методов контроля. Контролем эффективности их применения также является учет динамики подневного падежа цыплят и учет частоты встречаемых патологоанатомических признаков. Применение эффективных антибиотиков следует проводить под контролем их чувствительности к культурам, выделенным в хозяйстве.

4. Пробиотикопрофилактика

Для контроля *S. enteritidis* – инфекции является целесообразным применение пробиотических препаратов. Нами в разное время испытаны различные пробиотики – целлобактерин (комплексный препарат), лактикол (лактил) и др.

5. Специфическая профилактика

Существенным в профилактике сальмонеллеза является разработка эффективных средств специфической профилактики. Нами была создана инактивированная сорбированная вакцина против сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц. Контроль вакцины на активность проводили по динамике выработки антител, по выявлению антител в желтке яиц от вакцинированной птицы и по определению антиинвазивных свойств вакцины.

Контроль выработки антител в крови вакцинированных и контрольных птиц был проведен в реакции ККРНГА на стекле и развернутой РА с эритроцитарным пуллорным антигеном.

Антиинвазивные свойства вакцины изучали путем заражения вакцинированных и контрольных невакцинированных птиц.

Для изучения антиинвазивных свойств вакцины против сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц было проведено 2 опыта: в первом цыплят-бройлеров 38-дневного возраста вакцинировали внутримышечно в дозе 1,0 мл. Через 22 дня цыплят заражали интратрахеально суточной бульонной культурой *S. enteritidis* в объеме 1,0 мл. Контролем служили невакцинированные зараженные цыплята. Во втором заражение проводили перорально суточной бульонной культурой *S. enteritidis* в дозе 1 мл (≈1 млрд микробных тел). Культуру вводили через канюлю непосредственно в зоб. Контроль заражения учитывали по бактериологическому исследованию групповых проб помета. Антиинвазивные свойства учитывали по выделению возбудителя из внутренних органов зараженных вакцинированных и невакцинированных птиц,



убитых через 10 дней после заражения. Групповые пробы помета исследовали пятикратно: каждые 2 дня после заражения. Культура заражающего штамма *S. enteritidis* была выделена из всех групповых проб помета невакцинированных (контрольных) птиц, в то время как в подопытной группе (вакцинированная птица) культура заражающего штамма не была выделена ни в одной пробе.

Как в первом, так и во втором опыте от вакцинированных птиц культура заражающего штамма не была выделена. От контрольных цыплят, зараженных интратрахеально, культуру выделили от 50% цыплят из легких, сердца, печени и желчи (опыт 1).

Во втором опыте в контрольной группе культура *S. enteritidis* была выделена практически от всех зараженных кур, в т.ч. из селезенки, яичных фолликул и из проб помета.

Производственные испытания вакцины были проведены в одном из птицеводств Саратовской области. В соответствии с «Временным наставлением по применению инактивированной сорбированной вакцины против сальмонелла-энтеритидис инфекции» было вакцинировано 62150 голов. Вакцинацию начинали с 30–35 дневного возраста. В возрасте 150–170 дней проводили ревакцинацию.

Контролем эффективности вакцинации служили бактериологические исследования. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты бактериологических исследований птиц птицеводства, вакцинированных против сальмонелла-энтеритидис инфекции инактивированной сорбированной вакциной

Исследуемый материал	Количество проб	Выделено культур <i>S. enteritidis</i>
1	2	3
Мазки из клоаки	40	–
Смывы с поверхности яиц	70	–
Положительно реагирующие (после вакцинации)	3	–
	13	–
	23	–
	149	не выделены
Контроль невакцинированные		
Положительно реагирующие	45	9
Эмбрионы-задохлики	125	5
Трупы	6	3
Итого	176	17 (10%)

Из представленных в табл. 1 данных видно, что до применения инактивированной сорбированной вакцины против сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц возбудитель постоянно выделялся из патологического материала, в т.ч. из эмбрионов-задохликов, и от убитых кур, положительно реагирующих в ККРКА с эритроцитарным пуллорным антигеном. Процент выделения был высоким.

При бактериологическом исследовании вакцинированных птиц выделения культур *S. enteritidis* не было.

6. Точки критического контроля анализа опасности (НАССР)

НАССР – анализ рисков и критические контрольные точки (русский вариант HACCP или АРККТ), является моделью управления качеством и безопасностью продукции на пищевых предприятиях во многих странах мира. Основная задача системы HACCP–АРККТ – оценка производственного процесса с точки зрения анализа опасностей и соответствующих им сте-

пеней рисков. Затем устанавливаются режимы контроля на тех стадиях производственного процесса, на которых была установлена вероятность возникновения опасностей. Центральным звеном в концепции ХАССП являются три контролируемых этапа:

- предотвращение опасности;
- предотвращение распространения опасности;
- устранение опасности.

В этот раздел системы контроля нами включены три основных показателя: микробиологический контроль за кормами, за технологическими объектами, за выходом продукции.

Наибольшую опасность представляет контаминация кормов сальмонеллами. Заражение пищевых продуктов, производимых от птиц сальмонеллами часто ассоциируется с зараженностью исходных кормов сальмонеллами. Случаи обнаружения *Salmonella spp.* в пищевых продуктах при документальном отслеживании выводят на неблагоприятное состояние кормов для птицы и их ингредиентов. Отчасти это обусловлено широким разнообразием средовой адаптивности *Salmonella spp.* и способностью легко сохраняться и размножаться в процессе переработки и хранения кормов. Способность *Salmonella spp.* сохранять жизнеспособность в течение нескольких месяцев в условиях, при которых хранятся корма, является серьезной проблемой для птицеводческой промышленности. Ограничение контаминации кормов для птицы *Salmonella spp.* требует совершенствования методов мониторинга в процессе приготовления и употребления кормов и применения соответствующих «безопасных» технологий. Выборочный анализ образцов корма является важным элементом для уменьшения степени контаминации.

Для обеззараживания кормов помимо гранулирования и экструдирования целесообразно применять пребиотики – комплексные препараты, представляющие тщательно подобранную смесь органических кислот и их солей, и отдельные препараты на базе муравьиной кислоты или муравьиного альдегида или молочной и лимонной кислот. Их можно добавлять к компонентам кормов или к готовому продукту.

Следующей критической точкой опасности могут быть определены все помещения цикла производства – инкубаторий, птичники, кормоцех и др. Особое внимание необходимо обратить на убойный цех, утильцех, вскрывочную. И, естественно, самым ответственным моментом является контроль за выходом продукции. В первую очередь контроль на сальмонеллы и кампилобактерии. Нами были проведены бактериологические исследования смывов с тушек и воды из ванн охлаждения в убойных цехах птицефабрик. Полученные данные свидетельствуют о возможной контаминации условно-патогенной и эпидемиологической микрофлорой птицеводческой продукции на отдельных этапах производства (рис. 9).

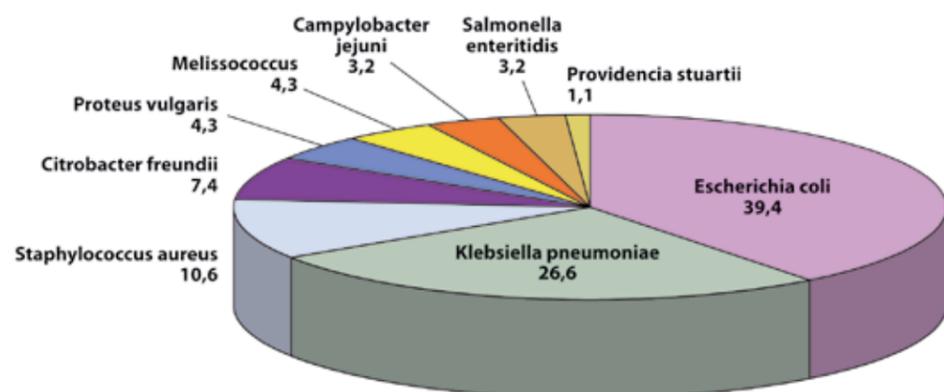


Рис. 9

Обобщая изложенное, можно заключить, что сальмонелла-энтеритидис инфекция птиц является актуальной не только для птицеводства, но и для охраны здоровья людей. Предлагаемая программа профилактики и оздоровления, разработанная нами система контроля, является объективно обоснованной, целесообразно применение ее в птицеводствах.

Специфическая профилактика *Salmonella enteritidis* – инфекции птиц

Рождественская Т. Н. – НПП «АВИВАК»

Наблюдаемый в многих странах рост заболеваемости сальмонеллезом животных и людей, увеличение числа выделяемых от них сероваров сальмонелл, а также повышение инцидентности контаминации этими бактериями пищевых продуктов животного происхождения и объектов внешней среды выдвигают данную инфекцию в ряд важнейших зооантропонозов.

Для промышленного птицеводства решение проблемы сальмонеллезом имеет особое значение, поскольку эта отрасль производит диетическую, легко усвояемую продукцию, используемую для питания людей. Неправильно хранившиеся и прошедшие недостаточно надежную обработку контаминированные сальмонеллами яйца и тушки птицы, а также продукты их переработки могут вызвать у людей заболевание, которое особенно тяжело протекает у детей.

Среди циркулирующих в птицеводческих хозяйствах сальмонелл наибольшую опасность для населения представляет *Salmonella enteritidis* (рис. 1, 2).

Борьба с *Salmonella enteritidis* – инфекцией птиц затруднена высокими адаптационными возможностями этой бактерии, позволяющими ей вырабатывать устойчивость к антибиотикам и химиопрепаратам. Однако применение в птицеводстве отечественных и импортных инактивированных вакцин против этой инфекции позволили в последние годы добиться значительного сокращения ее распространения.

Нами разработаны и испытаны 2 варианта (сорбированный и эмульсионный) инактивированной вакцины «АВИВАК–САЛЬМОВАК» против инфекции *S. enteritidis*. Эффективность препарата оценивали по его способности ингибировать инвазивные свойства возбудителя и индуцировать у привитой птицы специфический антительный ответ.

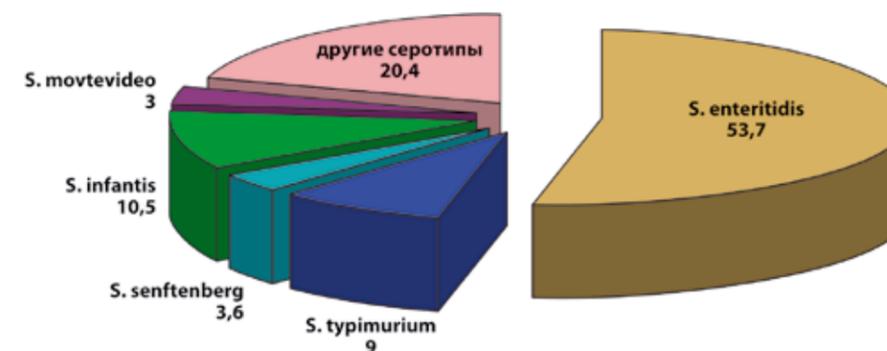


Рис. 1. Частота выявления различных серотипов сальмонелл у птицы яичных кроссов

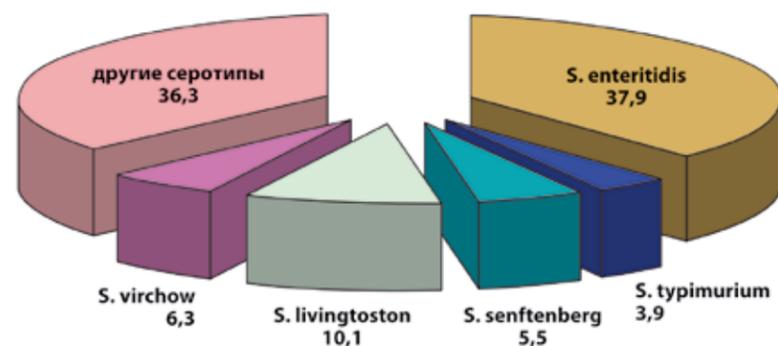


Рис. 2. Частота выявления различных серотипов сальмонелл у птицы родительского стада мясных кроссов

Динамику поствакцинального ответа птицы определяли исследованием сыворотки крови в различные сроки после введения препарата в развернутой РА с эритроцитарным пуллорным антигеном. С этой целью от птицы, привитой сорбированной вакциной, брали пробы крови 1 раз в неделю на протяжении 91 дней, а от птицы, иммунизированной эмульсионной вакциной, – за сутки до ее введения, а затем через 30, 60, и 90 дней.

У птицы, привитой сорбированной вакциной, максимальный средний титр специфических антител отметили на 28-й день (1:433). С 35-го по 91-й день он постепенно снижался в среднем на 1641 (9,6%) каждые 7 дней (рис. 3.)

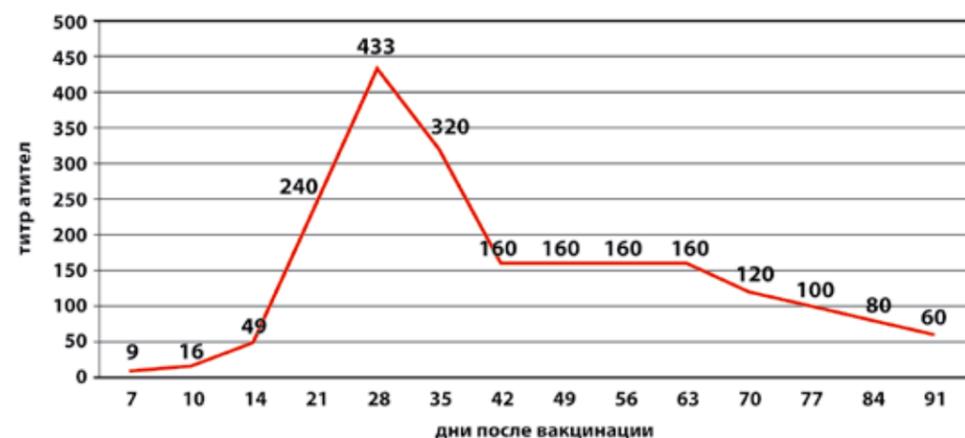


Рис. 3. Динамика изменения титра сывороточных антител к *S. enteritidis* у птицы, привитой сорбированным вариантом вакцины

В период с 40-го по 79-й дни после вакцинации проводили сбор яиц снесенных привитой птицей. Исследование в РА экстрактов яичных желтков показало, что титр специфических антител в них был ниже, чем в сыворотке крови (рис. 4). Максимального уровня титр антител достигал в желтках позднее, чем в крови (40-, 46-, и 28-й дни после вакцинации соответственно).

Тем не менее обнаружение специфических антител в диагностических титрах в желтках яиц свидетельствует о возможности защиты цыплят в первые дни жизни за счет материнского иммунитета.

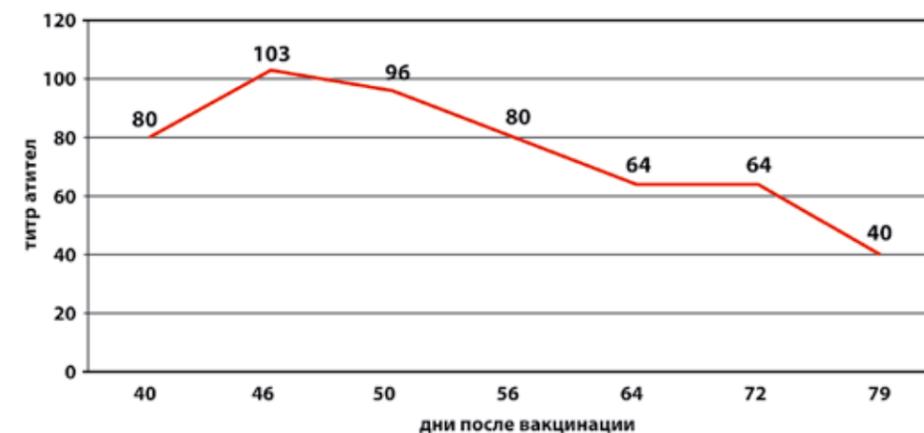


Рис. 4. Динамика изменения титра антител к *S. enteritidis* в желтке яиц птицы, привитой сорбированным вариантом вакцины

В эксперименте по изучению ингибирования сорбированной вакциной инвазивных свойств *S. enteritidis* 38-дневных бройлеров внутримышечно привили этим препаратом в дозе 0,5 мл. Через 22 дня привитых и контрольных (невакцинированных) цыплят перорально заразили суточной бульонной культурой *S. enteritidis*. Групповые пробы помета собирали с интервалом 2 дня. Использованный для заражения штамм *S. enteritidis* изолировали только из помета цыплят контрольной группы. Через 10 дней после заражения птицу обеих групп подвергли убою и провели бактериологические исследования ее внутренних органов. Получили такие же результаты, как при исследовании групповых проб помета.

Динамика изменения титра сывороточных антител у птицы, привитой эмульсионным вариантом вакцины, представлена на рис. 5. До введения вакцины титр специфических антител у птицы был ниже диагностического уровня (1:20). Через 1 месяц после вакцинации титр сывороточных антител значительно повысился, составив в среднем 1:16091. Через 2 и 3 месяца после вакцинации отметили некоторое снижение титра, но при этом он оставался высоким (1:14994 и 1:14262 соответственно).

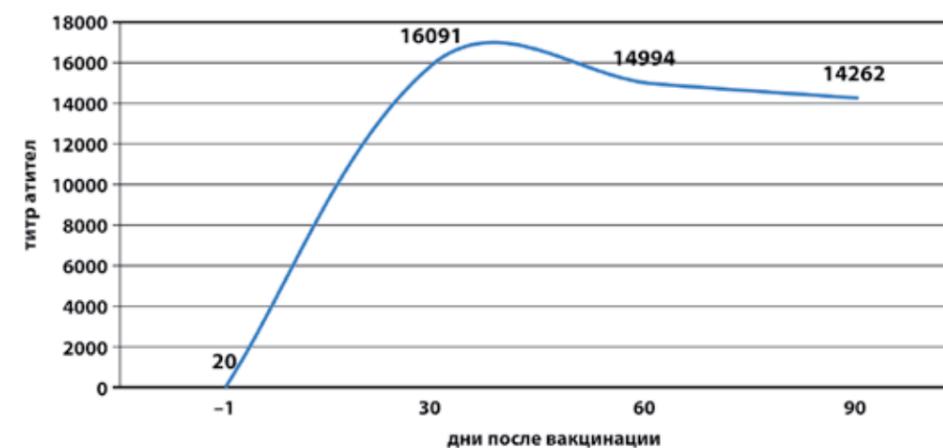


Рис. 5. Динамика изменения титра сывороточных антител к *S. enteritidis* у птицы, привитой эмульсионным вариантом вакцины



Сравнение результатов испытаний показало, что эмульсионный вариант вакцины проявляет более выраженную антигенную активность и индуцирует более интенсивный антительный ответ, который сохраняется у привитой птицы в течение более длительного периода времени, чем после иммунизации сорбированной вакциной.

В настоящее время налажено промышленное производство вакцины «АВИВАК–САЛЬМОВАК». Препарат применяют с профилактической целью в неблагополучных по *S. enteritidis* – инфекции птицеводческих хозяйствах. Им прививают только клинически здоровую птицу после получения отрицательных результатов исследования сыворотки крови в кровянокапельной реакции прямой гемагглютинации на стекле с эритроцитарным пуллорным антигеном.

Первую вакцинацию проводят 50–55-дневным цыплятам, а затем их ревакцинируют по достижении 90–110-дневного возраста. Препарат вводят птицам внутримышечно в объеме 0,5–1,0 см³. Для оценки уровня поствакцинального иммунитета в РА тестируют сыворотку крови 20 привитых птиц из каждого зала. Не менее 80% исследованных проб должны иметь титр антител не ниже 1:64.

Применение вакцины позволило достичь стойкого эпизоотического благополучия ряда птицеводческих хозяйств по *Salmonella enteritidis* – инфекции и снизить затраты, связанные с регулярными обработками птицы антимикробными препаратами.

Сальмонеллез птиц – один из наиболее опасных зооантропонозов. Применение вакцины «АВИВАК–САЛЬМОВАК» обеспечивает эпизоотическое благополучие по нему птицеводческих хозяйств, улучшает эпизоотическую ситуацию по инфекции *S. enteritidis* и предотвращает заболевание сальмонеллезом населения.

Колибактериоз птиц: факторы патогенности возбудителя и профилактика болезни

Рождественская Т. Н. – НПП «АВИВАК»

Введение

Колибактериоз – заболевание птиц, вызываемое кишечной палочкой и наносящее существенный экономический ущерб промышленному птицеводству. По данным Росптицесоюза, в России в 2009 г. колибактериоз диагностировали в 48,46% случаев. В хозяйствах при неудовлетворительных условиях кормления, содержания и ветеринарно-санитарного обслуживания птицы вспышки болезни возникают чаще, носят массовый характер и сопровождаются большими экономическими потерями.

E. coli относится к условно-патогенным бактериям, чаще проявляющим свои патогенные свойства у птицы с недостаточно сформированным или ослабленным под воздействием различных стресс-факторов иммунитетом. Ее вирулентность определяется структурой клеточной поверхности, продукцией активных веществ (экзотоксинов, гемолизина) и некоторыми особенностями метаболизма, позволяющими выживать в условиях меняющейся среды макроорганизма.

На разных стадиях инфекции действуют различные факторы патогенности *E. coli*. Вначале бактерия пользуется средствами адгезии, позволяющими ей прикрепляться к клеткам и колонизировать ткани хозяина. Затем образует капсулу и другие факторы, защищающие ее от клеточных и гуморальных иммунных атак, а также токсины, разрушающие фагоциты и индуцирующие клинические нарушения (диарею и т.д.), которые способствуют колонизации тканей хозяина.



Для профилактики колибактериоза птицы применяют антимикробные препараты и пробиотики. Однако избавиться этими средствами от вирулентных штаммов кишечной палочки удастся далеко не всегда. Кроме того, применение антимикробных препаратов с профилактической целью влечет за собой целый ряд негативных последствий – дисбактериоз, аллергические реакции, появление у патогенных и условно-патогенных бактерий резистентности к антибиотикам, ограничения на использование в пищу людям продуктов убой птицы, обработанной такими препаратами.

В этой связи остро стоит вопрос о специфической профилактике колибактериоза птицы.

Более 20 лет нами ведется работа по изучению факторов патогенности штаммов *E. coli*, циркулирующих в птицеводческих хозяйствах. Эти исследования позволили определить основные принципы конструирования эффективной вакцины против колибактериоза птицы и подобрать подходящие для этого вакцинные штаммы бактерии.

Результаты исследований

Факторы патогенности. От трупов цыплят-бройлеров, кур-несушек яичных пород, индеек и утят разного возраста, а также куриных эмбрионов и клинически здоровой птицы из хозяйств ряда регионов страны с различной эпизоотической ситуацией по колибактериозу выделили около 400 культур *E. coli*.

Почти половину из них (47% культур) не удалось типировать по O-антигену стандартными O-коли сыворотками, 45% и 41% типизируемых штаммов отнесли к сероварам O:78 и O:2 соответственно, а 3% имели антигены O:1, O:4, O:8, O:9, O:11, O:15, O:55, O:115, O:126 или O:127.

Все выделенные культуры обладали характерными для *E. coli* культурально-морфологическими и биохимическими свойствами, но проявляли разную вирулентность в отношении суточных цыплят и куриных эмбрионов (первых заражали интраорбитально, а последним суспензию бактерий инокулировали в хориоаллантаоисную полость). По вирулентным свойствам выделенные культуры *E. coli* разделили на 4 группы: высоковирулентные, вирулентные, слабовирулентные и авирулентные. Высокую вирулентность проявили 19 из 24 тестированных культур, полученных от индеек, 9 из 13 культур, выделенных от бройлеров, и 15 из 22 изолятов, изолированных от кур-несушек. Остальные культуры были слабо- или авирулентными. Наибольшую вирулентность проявили культуры, относящиеся к сероварам O:78 и O:11, а также большая часть нетипизируемых по O-антигену цитотоксин-образующих изолятов. Эти штаммы при интраназальном введении вызывали у цыплят и белых мышей острую катаральную пневмонию, сопровождавшуюся скоплением серозно-геморрагического экссудата в грудной полости и гибелью 90–100% животных в течение 24–48 часов. Умеренную вирулентность проявили культуры серовара O:2, остальные были слабо- или авирулентными.

Токсигенные свойства изучали у 93 культур кишечной палочки. Большинство из них образовывали токсины: 24% – термолабильный, 24% – термостабильный, 9% – оба упомянутых токсина, а 24% культур продуцировали цитотоксин.

В опытах на мышках-сосунках и 1–3-дневных цыплятах установили, что термостабильный токсин *E. coli* обладает диареогенными свойствами. Заболевшие цыплята погибали в течение 2–3 дней. У них на всем протяжении тонкого отдела кишечника обнаруживали скопление серозно-геморрагического экссудата.

Геморрагическую активность термолабильного энтеротоксина наблюдали в опытах на куриных эмбрионах (при введении содержащих токсин фильтратов на хориоаллантаоисную оболочку) и белых мышках (при интраназальном введении фильтратов). В течение 1–2 суток все куриные эмбрионы и мыши погибали. При вскрытии павших эмбрионов обнаружили точечные кровоизлияния на всех оболочках, а при вскрытии цыплят – отек легких и острую



катаральную пневмонию. Аналогичную картину отмечали при заражении цыплят токсинообразующими культурами *E. coli*, что подтверждает ответственность токсинов за формирование специфического патологического процесса при колибактериозе птиц.

При исследовании 118 культур *E. coli* адгезивные свойства выявили у 63; 20% из них обладали сильной, 40% – умеренной и 24,5% – слабой адгезивностью. Наибольшее количество штаммов имело адгезины K99, K88 или A41. У трех изолятов обнаружили одновременно 2 адгезивных антигена – K99 и A41. По одной культуре также имели двойные сочетания антигенов A20, A41, P987, K88, K99. Штаммы, у которых обнаружили адгезины, относились к патогенным сероварам O:1, O:2, O:78, O:9, O:111, причем 69% этих культур принадлежали к серовару O2. Штаммы, у которых обнаружили по два адгезивных антигена, относились к сероварам O2 и O78. 15,5% культур *E. coli* не имели адгезивных антигенов.

Установлена прямая корреляция между степенью адгезивной активности и вирулентностью культур кишечной палочки: 85,7% штаммов с высокой и средней степенью адгезивности были высоковирулентными для эмбрионов и цыплят, а среди авирулентных культур высокоадгезивных не было.

Следует отметить, что наиболее вирулентными были штаммы кишечной палочки, образующие цитотоксин. При интраназальном заражении они вызывали гибель 90–100 цыплят и мышей в течение 24–48 часов. Эти штаммы относились к серовару O78, или их не удалось типировать стандартными сыворотками (табл. 1).

Таблица 1. Токсигенные и вирулентные свойства штаммов *E. coli*, относящихся к разным сероварам

Серовары	Число штаммов	Тип образуемых токсинов	Относительное количество изолятов, (%)			
			вв	в	св	ав
1	2	3	4	5	6	7
O:78	21	ST, LT, CT	60	30	8	2
O:2, O:1, O:55	15	ST, LT	18	45	28	9
O:114	1	LT	0	0	0	1
Нетипируемые	34	CT, LT, CT	56	30	10	4

Обозначения: вв – высоковирулентные; в – вирулентные; св – слабовирулентные; ав – авирулентные; LT – термолабильный токсин, ST – термостабильный токсин, CT – цитотоксин.

Установить связь токсигенности с антигенными свойствами *E. coli* не удалось, т.к. к одному и тому же серовару (например O:78) могут относиться штаммы, образующие токсины, и не обладающие функцией токсинообразования.

Разработка и апробация вакцины

Для приготовления вакцины отобрали высоковирулентные штаммы *E. coli*, выделенные в разных регионах страны от различных видов птицы, относящиеся к наиболее распространенным сероварам, образующие токсины и обладающие выраженными адгезивными свойствами.

На базе НИИ вакцин и сывороток из двух штаммов посредством их отдельного глубокого реакторного культивирования изготовили опытно-промышленную серию инактивированной сорбированной вакцины против колибактериоза птицы «КОЛИВАК». После подтверждения стерильности полученной серии препарата оценили его безвредность и иммуногенность для цыплят. Привитые им цыплята оставались клинически здоровыми в течение всего срока наблюдения, а при убое у них не обнаружили изменений во внутренних органах и на месте введения вакцины.



Иммуногенную активность вакцины оценивали по величине титра антител у привитых цыплят и посредством их контрольного заражения на 15-й день после введения вакцины. Через 2 недели после иммунизации средний титр сывороточных антител у привитых цыплят в реакции непрямой агглютинации составил $5,7 \log_2$.

Через сутки после внутримышечного заражения суточной бульонной культуры вирулентного штамма *E. coli* в дозе 1 млрд микробных клеток все цыплята контрольной группы заболели. На третьи сутки в контрольной группе начался падеж, и в течение последующих 3-х дней погибло 70% цыплят. При их вскрытии обнаружили изменения, характерные для колибактериоза, а также разлитой некроз тканей на месте введения культуры. При бактериологическом исследовании из внутренних органов изолировали культуру штамма, использованного для заражения птицы.

Сохранность птицы опытной группы после заражения составила 90%. Выживших цыплят убили по окончании опыта. При их вскрытии во внутренних органах изменений не обнаружили. При бактериологическом исследовании культуру исходного штамма *E. coli* не выделили.

Производственные испытания вакцины «КОЛИВАК» провели на неблагополучной по колибактериозу птицефабрике. С этой целью привили 28000 цыплят 4-месячного возраста. Контролем служил аналогичный птичник, где с целью профилактики колибактериоза проводили медикаментозную терапию. За птицей вели наблюдение в течение 10 месяцев. Эффективность вакцины «КОЛИВАК» оценивали по сохранности птицы, частоте обнаружения поражений респираторных органов, уровням конверсии корма на единицу продукции, продуктивности и расходам на ветеринарное обслуживание. Результаты учитывали дважды: через 4 месяца после вакцинации сохранность птиц опытной группы была на 0,4%, а через 10 месяцев – на 0,7% выше, чем в контрольной группе. Патологоанатомические изменения у павших птиц опытной группы носили вариабельный характер, и от них наиболее часто выделяли *P. aeruginosa* и *S. enteritidis*. У 80% цыплят контрольной группы гибель наступила из-за поражения органов дыхания, из которых помимо двух упомянутых выше бактерий выделили *E. coli*. У птицы опытной группы яйценоскость оказалась выше, чем у контрольной птицы на 6%, а оплата корма в пересчете на 10 снесенных яиц, напротив, была ниже на 0,11 кормовых единиц. Расходы на антибиотикотерапию в контрольном птичнике были в 1,5 раза выше.

Заключение

В результате проведенных исследований установили, что выделенные в птицеводческих хозяйствах культуры кишечной палочки относятся к разным сероварам и в неодинаковой степени вирулентны для цыплят и куриных эмбрионов. Наиболее высокой вирулентностью обладают штаммы, относящиеся к сероварам O:78, O:11 и нетипируемые по O-антигену. Среднюю степень вирулентности проявляют культуры серовара O:2.

Установили, что вирулентные штаммы обладают адгезивными и токсигенными свойствами. Они способны вырабатывать термолабильный и/или термостабильный энтеротоксины. Однако наиболее вирулентными являются штаммы *E. coli*, способные вырабатывать цитотоксин. Его выявили у нетипируемых и относящихся к серовару O:78 штаммов, которых следует считать наиболее опасными.

Очевидно, что перечисленные факторы патогенности кишечной палочки в естественных условиях действуют комплексно, в совокупности обеспечивая развитие инфекционного процесса.

Нами были определены критерии подбора вакцинных штаммов *E. coli*, позволившие разработать инактивированную вакцину против колибактериоза птиц «КОЛИВАК». Испытания, проведенные в лабораторных и полевых условиях, показали, что вакцина обладает выраженными протективными свойствами в отношении эпизоотически опасных изолятов *E. coli*



независимо от их серологической принадлежности и региона выделения. Внедрение вакцины «КОЛИВАК» в ветеринарную практику обеспечивает рост экономической эффективности птицеводства и значительно сокращает расходы на медикаментозную терапию птицы в неблагополучных по колибактериозу хозяйствах.

О проблеме кампилобактериоза в птицеводстве

Борисенкова А.Н.; Рождественская Т.Н.; Новикова О.Б. – НПП «АВИВАК», ФГУ ВНИВИП

Довольно большое количество бактерий персистирует в организме птиц (в основном в кишечнике), не вызывая у них клинического заболевания, но представляя эпидемиологическую опасность. Заражению ими людей может способствовать нарушение санитарных правил получения птицеводческой продукции.

К числу таких возбудителей относятся кампилобактерии (далее – КБ). Эти бактерии распространены повсеместно. Основными их резервуарами являются домашние и дикие птицы, а также домашние и с/х животные. Наибольшую эпидемиологическую опасность представляют куры и животные, контакт с которыми у человека наиболее велик. При этом в высшей степени опасны особи, у которых кампилобактериозная инфекция протекает в форме бактерионосительства без видимых клинических проявлений.

Из числа известных в настоящее время видов КБ у птиц встречаются четыре (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lariidis* и *C. hyointestinales*). Из них патогенными для птиц считают только *C. jejuni*, а для человека – *C. jejuni* и *C. coli*.

Кампилобактериоз – зооантропоноз с фекально-оральным механизмом передачи возбудителей, основным резервуаром которых служат животные, а факторами передачи – пищевые продукты. Мясо домашней птицы считают одним из основных факторов передачи возбудителей, а кур в условиях промышленного птицеводства – важным резервуаром инфекции, что связано с широким распространением среди них КБ и особенностями переработки, не позволяющими получить эпидемиологически безопасную продукцию.

Эпидемиологическая опасность мяса кур возрастает в связи с тем, что даже незначительная его контаминация кампилобактериями (4 колониеобразующие единицы / г мяса) может быть опасной для человека. Обсуждением целесообразности микробиологических ограничений для кампилобактерии занимается комитет по пищевой гигиене «Комиссии Кодекс Алиментариус» ФАО / ВОЗ.

Одним из наиболее опасных факторов контаминации продуктов птицеводства является обсемененная микробами вода ванн, в которых охлаждают тушки. Нами совместно с сотрудниками НИИЭМ им. Пастера проведены бактериологические исследования на наличие КБ на двух птицефабриках мясного направления. Объектами бактериологического исследования были живые куры перед убоем, тушки, а также вода в убойном цехе. Всего было исследовано 90 проб, в т.ч. 40 проб от живых кур, 37 от тушек, 13 проб воды (8 после душевого охлаждения и 5 из ванн охлаждения).

Культивирование КБ проводили на селективных питательных средах, содержащих эритрит-агар, сульфат железа, пируват натрия, метабисульфит натрия и смесь антибиотиков по прописи НИИЭМ им. Пастера. Посевы инкубировали в микроаэрофильных условиях при температуре +42° С в течение 48–72 часов. В чашках с посевами наблюдали два типа колоний КБ. В 86% случаев колонии были негемолитическими, сероватыми, плоскими, влажными, блестящими, прозрачными, как бы растекающимися. Колонии второго типа встреча-



лись значительно реже, были также негемолитическими, более плотными и оформленными, выпуклыми и блестящими. В мазках клетки КБ были грамтрицательными и имели S-образную или спиралевидную форму. Для идентификации выделенных культур использовали тесты на каталазу и оксидазу (КБ образуют оба фермента).

C. coli и *C. jejuni* дифференцировали пробой с гиппуратом натрия. Появление четкого пурпурного окрашивания указывало на способность бактерий гидролизовать гиппурат натрия и о принадлежности изолятов к виду *C. jejuni*.

В результате бактериологического исследования птиц и других объектов выделили 34 культуры *C. jejuni*, в т.ч. 20 культур от живых кур (50%), 8 – из тушек и 5 из всех проб воды, взятых из ванн, и одной пробы воды, полученной после душевого охлаждения.

В НИИЭМ им. Пастера изготовили наборы диагностических адсорбированных агглютинирующих сывороток к 33 штаммам КБ из коллекции Пеннера и к 22 штаммам КБ из коллекции Лиора, пригодных для серотипирования этих бактерий в реакции агглютинации на стекле. С помощью полученных антисывороток изучили штаммы КБ, выделенные от 79 кур из двух хозяйств. По схеме Лиора определили тип 55 штаммов (70%), а по схеме Пеннера – 31 (40%) штамм. Использование обеих схем позволило определить серовар у 75,7% штаммов.

Установили антигенное разнообразие штаммов КБ, циркулирующих в популяциях кур региона. Серовары Пеннера 38 и 9 оказались преобладающими. Применение схемы Лиора позволило выявить существенное различие в серопейзаже КБ, выделенных в разных птицеводческих хозяйствах. Так, на одной из птицефабрик доминирующим оказался серовар Лиор 36, а на другой птицефабрике – серовар Лиор 28.

Еще одной особенностью циркуляции КБ среди кур было выявление нескольких сероваров от одной птицы, причем большая часть колоний относилась к ведущему серовару.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение диагностических сывороток позволяет получить данные о серопейзаже циркулирующих штаммов.

Второй тур исследований провели в 2001 г. на птицефабрике яичного направления. Поскольку КБ являются комменсалами желудочно-кишечного тракта, то для бактериологического контроля использовали метод прижизненной диагностики, в частности исследование групповых проб помета или взятие мазков из клоаки. Практическая ценность данного метода состоит также в том, что он дает возможность выбрать средства профилактики и не требует обязательного убоя птицы. В упомянутом выше хозяйстве взяли 80 проб, в т.ч. 30 групповых проб помета, 20 смывов с тушек, 20 проб воды из ванн охлаждения и мазки из клоаки 10 птиц, которым в течение 5 дней применяли пробиотик лактикол.

Выделение КБ из фекалий птиц проводили по общепринятой методике в нашей модификации. В качестве транспортной среды использовали физиологический раствор, а для выращивания КБ – кровяно-угольный эритрит-агар с добавлением антибиотиков и пирувата натрия (смесь Буцлера). Микроаэрофильные условия (атмосферу из 85% N₂, 10% CO₂ и 5% O₂) создавали в эксикаторе с плотно притертой крышкой. Посевы культивировали в термостате при температуре +42° С в течение 48 часов. По истечении этого времени проводили визуальную оценку выросших колоний, микроскопию и дальнейшую идентификацию культур. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Наибольшее количество КБ выделили из групповых проб помета, что подтверждает факт носительства этих микроорганизмов птицами. Из смывов с тушек также выделили *C. jejuni*. Выделение культур КБ на выходе готовой продукции доказывает существование перекрестной контаминации доброкачественной продукции, куда данные микроорганизмы могут попасть из помета птиц. Из проб воды, взятых в ваннах охлаждения, КБ не обнаружили, вероятно, из-за недостаточного накопления возбудителя, т.к. эти пробы брали в начале технологического процесса при охлаждении не более 5% убойных кур. Бактериологический анализ мазков, взятых из клоаки птиц после применения лактикола, также дал отрицательный ре-



зультат, что указывает на эффективность использования данного пробиотика для снижения распространения КБ среди птиц.

Таблица 1. Частота выделения КБ из различных объектов

Объект	Исследовано проб	Выделено культур <i>S. jejuni</i>	Частота изоляции, (%)
1	2	3	4
Помет кур	30	17	57
Смывы с тушек	20	3	15
Ванны охлаждения*	20	0	0
Мазки из клоаки	10	0	0
Всего	80	20	25

*Пробы воды из ванн охлаждения брали в начале технологического процесса при охлаждении не более 5% убойных кур, а мазки из клоаки – через 5 дней после применения пробиотика.

Обобщая изложенное, можно констатировать, что *S. jejuni* циркулирует в птицеводческих хозяйствах как мясного, так и яичного направлений. Снизить уровень контаминации этой бактерией тушек кур, как показали результаты проведенных нами исследований, можно посредством улучшения технологии получения продукции птицеводства (душевое охлаждение) и применения в птицеводческих хозяйствах препаратов, снижающих распространение КБ, в частности пробиотиков.

Орнитоз – хламидийная инфекция птиц

Данченко Г. Н. – НПП «АВИВАК»

Орнитоз (хламидиоз) птиц – инфекционное заболевание, характеризующееся полиморфизмом клинических признаков, сопровождающееся лихорадкой, общей интоксикацией, поражением органов респираторной и/или нервной системы, органов репродукции и развитием иммунодефицита.

Возбудитель болезни – *Chlamydophila psittaci*. Хламидии – мелкие грамтрицательные кокки, обладающие характерной для прокариот структурой, содержащие ДНК и РНК. В настоящее время эти микроорганизмы выделены в отдельный порядок *Chlamydiales*, который представлен 12 видами. Распространению инфекции способствуют такие факторы, как наличие огромного природного резервуара среди диких, синантропных и декоративных птиц. Хламидии выделены от 153 видов птиц, а антитела обнаружены у 465 видов птиц, выделены от грызунов, членистоногих, рыб, амфибий, моллюсков.

Трудности таксономической классификации хламидий связаны с тем, что они имеют свойства, характерные как для вирусов, так и для бактерий. В отличие от вирусов, они в своем составе содержат две нуклеиновые кислоты – ДНК, РНК и рибосомы. Так же, как и бактерии, хламидии имеют оболочку, подобную оболочке бактерий. Хламидии обладают значительной ферментативной активностью, чувствительны к препаратам широкого антибактериального спектра действия. В отличие от бактерий, хламидии, также как и вирусы, являются облигатными внутриклеточными паразитами, зависимыми от клетки хозяина. Сходство и различия хламидий с вирусами, бактериями и микоплазмами представлены в табл. 1.



Таблица 1. Характеристика хламидий, бактерий, микоплазм и вирусов (Ориэл Дж. Д., Риджуэй Дж. Л., 1984)

Признаки	Хламидии	Бактерии	Микоплазмы	Вирусы
1	2	3	4	5
Размеры до 500 нм	+	-	+	+
Клеточная оболочка	+	+	-	-
ДНК + РНК	+	+	+	-
Ядро без ограничивающей мембраны	+	+	+	-
Рибосомы прокариотного типа	+	+	+	-
Метаболизм углеводов	+	+	+	-
Эклипсофаза	-	-	-	+
Использование нуклеиновых кислот хозяина	-	-	-	+
Бинарное деление	+	+	+	-
Ингибирование антибиотиками	+	+	+	-
Рост на неживых бактериологических средах	-	+	+	-
Энергозависимость от клетки хозяина	+	-	-	+

Особенно большое сходство хламидии имеют с риккетсиями. Но, в тоже время, они отличаются от риккетсий тем, что:

- риккетсии лучше размножаются в клетках с пониженным обменом, тогда как хламидии – в клетках с высоким уровнем метаболизма;
- у риккетсий имеется собственный метаболизм, так как они содержат все необходимые для жизни ферменты;
- у риккетсий все формы развития являются инфекционными, а у хламидий только элементарные тельца, тогда как вегетативные формы неинфекционны.

Взаимоотношения хламидий с клеткой хозяина являются результатом тонкой адаптации возбудителя к внутриклеточным условиям развития. Хламидия обеспечивает свое развитие, не всегда вызывая разрушения клетки хозяина.

Способность длительно персистировать в макроорганизме отличает хламидии от возбудителей других болезней.

Клинические проявления при персистенции могут быть выраженными, слабо выраженными, или отсутствовать совсем. Персистентную инфекцию делят на латентную (скрытую инфекцию), хроническую (характеризуется периодами ремиссий и обострений) и медленную инфекции. Орнитоз птиц у взрослых особей проявляется как хроническое длительно рецидивирующее заболевание.

По отношению к различным физическим и химическим факторам хламидии проявляют значительную устойчивость, они способны к сохранению в окружающей среде в течение десятилетий.

В наше время нет химиотерапевтических средств, надежно saniрующих организм от возбудителя. Известные препараты эффективны лишь в 65–96%. Поэтому курс антибиотикотерапии должен назначаться в каждом конкретном случае с учетом результатов определения чувствительности выделенного изолята хламидий к антибиотикам *in vitro*. После окончания курса терапии необходимо провести контрольное диагностическое выделение хламидий в целях подтверждения эффективности лечения.

Наилучшим цитостатическим действием по отношению к хламидиям обладают антибиотики тетрациклинового ряда, макролиды, фторхинолоны.

К антибиотикам, не влияющим на репродукцию хламидий, можно отнести пенициллин, стрептомицин, неомицин, канамицин, нистатин, микостатин, гентамицин. Эти препараты



можно использовать для предупреждения роста контаминирующей микрофлоры в патологическом материале, направляемом для диагностического выделения хламидий.

Хламидии чувствительны к интерферону и сами индуцируют его образование.

Домашние, дикие и синантропные птицы должны рассматриваться, как потенциальные источники орнитоза. Все они являются значительным неконтролируемым резервуаром инфекции в природе. У внешне здоровых дневных хищных птиц, голубей и попугаев выявление специфических хламидийных антител варьирует от 70 до 78,6%.

В отношении восприимчивости организмов к заражению хламидиями до сих пор не все ясно. Серотип «D», чаще всего выделяемый от индеек, считается наиболее вирулентным, но этот же серотип выделяют от клинически здоровых голубей. Этот вариант хламидий обладает широким спектром патогенности для лабораторных животных, опасен для людей контактирующих с больной или инфицированной птицей. Интраназальное заражение голубей высокопатогенным изолятом хламидий, выделенным от уток, привело к летальному исходу, а заражение кур этим же изолятом не привело к каким-либо клиническим проявлениям болезни. От индеек, голубей, уток, воробьев были выделены низковирулентные штаммы серотипов «B» или «E», вызывающие течение вялотекущей инфекции.

Практически заражение птицы хламидиями происходит комплексно, как горизонтальным путем: аэрогенно, алиментарно, контактно через слизистые оболочки, царапины, так и вертикально – от производителей с контаминированным эякулятом, трансвариально.

Заболевание чаще проявляется сезонно в осенне-весенний период. Инкубационный период болезни у птиц длится 7–10, иногда 20 дней. Все виды птиц, в той или иной степени, восприимчивы к возбудителю хламидиоза. Заболевание индеек, гусей и уток протекает в более тяжелой форме, чем у кур. Орнитоз голубей чаще проявляется в латентной форме. Из попугаевых более восприимчивы амазоны, ара, волнистые попугаи. Более устойчивые к инфицированию серые африканские попугаи и какаду. Для всех видов птиц характерна выраженная чувствительность птенцов и неполовозрелых особей.

Различные штаммы хламидий при заражении птицы могут проявлять различную вирулентность, характеризующуюся различной степенью заболевания, патологоанатомических изменений и смертности. В промышленном птицеводстве зарегистрированы случаи вспышек орнитоза среди индеек, уток и гусей, приводящие к потерям от 30 до 80%.

Острое течение орнитоза обычно наблюдают в возрасте от 0 до 40 дней. Инфицирование взрослых особей птицы не всегда приводит к развитию заболевания, болезнь среди них протекает в скрытой форме, при этом птица становится источником распространения хламидий. Орнитоз чаще всего протекает в ассоциации с другими вирусными и бактериальными заболеваниями. При этом меняются инкубационный период болезни, клинические признаки, серологические и цитологические показатели болезни. Например, репликация хламидий в присутствии вируса гриппа происходит в шесть раз интенсивнее (Терских И. И., Громыко А. И., 1963).

Трансвариальная передача возбудителя обуславливает замирание эмбриона или вывод уже больных цыплят. Заболевание цыплят часто протекает в острой и подострой форме, может длиться 2–3 недели. Потери (чаще на 5–10 день болезни) достигают 30–50%. Отсутствие внешних признаков болезни не свидетельствует о выздоровлении, выжившая птица остается носителем инфекции, отстаёт в росте и развитии. Заболевание приобретает латентную или хроническую длительно рецидивирующую форму. В большинстве случаев половозрелая птица не погибает.

Скрытая форма хламидиоза проявляется клинически среди всех возрастов птиц в условиях стресса, при нарушении условий содержания и кормления, а также при осложнении сопутствующими заболеваниями.



Большое значение в природной очаговости хламидиоза имеют голуби. Выраженные клинические признаки хламидиоза у голубей проявляются, в основном, у молодых птиц, которые заражаются еще в гнезде от своих родителей. У взрослых птиц хламидиоз протекает в виде хронической латентной инфекции без выраженных клинических признаков.

Наиболее вирулентный штамм хламидий – это штамм, выделенный от индеек. Изоляты, выделенные от индеек, вызывают гибель голубей.

Хламидиозная инфекция среди домашних птиц широко распространена. Ее проявление зависит от нескольких факторов: вирулентности штамма, устойчивости хозяина, действующего стресса и путей заражения. Выраженность заболевания колеблется от почти бессимптомной формы до острого течения и летального исхода, вызванного, как правило, сверхвирулентным штаммом возбудителя. Острая форма болезни может развиваться, когда птица подвергается стрессам, в частности воздействию острой бактериальной или вирусной болезни.

Многие авторы указывают на трансвариальный путь передачи *C. psittaci* у птиц. Вертикальная передача доказана у цыплят, уток, попугаев, чаек и у гусей. Контаминация *C. psittaci* в развивающихся эмбрионах потенциально опасна при производстве живых вакцин.

С первых дней заболевания возбудитель обнаруживается в крови. Таким образом, после заражения возбудитель с лимфой и кровью разносится по всему организму, попадает во все органы и ткани, поражает регионарные лимфатические фолликулы, фабрициеву сумку, селезенку и другие паренхиматозные органы, головной мозг, костный мозг, миокард. Происходит генерализованный септический процесс, который и обуславливает вариабельность клинических и патологоанатомических признаков при орнитозе. Наиболее интенсивное размножение наблюдается в тканях с активным метаболизмом, к которым относятся эндотелий сосудов органов половой, респираторной и ретикулоэндотелиальной систем.

Первым и основным признаком острой формы орнитоза птиц является развитие крупозной пневмонии, которую диагностируют у подавляющего большинства павших птиц. Продолжительность инкубационного периода составляет от 5–7 дней до четырех недель и зависит от количества хламидий, попавших в организм птицы, их вирулентности. После заражения огромное количество инфицированного материала выделяется во внешнюю среду с экскрементами, истечениями из глаз.

При алиментарном заражении внедрение хламидий происходит в области тонкого кишечника. Слабовирулентный штамм возбудителя не приводит к существенным изменениям в кишечнике индеек и кур. У водоплавающих птиц – уток и гусей, орнитоз сопровождается диареей.

Из кишечника хламидии попадают в кровь, образуя вторичные очаги инфекции в организме.

Латентная форма болезни обусловлена «сбалансированным взаимоотношением» хламидий с организмом птицы. Это состояние может протекать десятилетиями у декоративных птиц. В промышленном птицеводстве инфекция поддерживается обычно в латентном состоянии благодаря применению антибиотиков, но даже если случайно применяется препарат, ингибирующий развитие хламидий, доза и схема лечения не являются эффективными. Птица продолжает выделять возбудителя во внешнюю среду. В таких случаях отмечается хроническая или бессимптомная формы орнитоза и на ее фоне развивается иммунодефицит.

Возбудитель хламидиоза часто выступает в роле провоцирующего пускового фактора в развитии вторичных вирусных и/или бактериальных инфекций.

Высокопатогенные штаммы вызывают острое течение инфекции с летальностью от 5 до 30%. Менее вирулентные штаммы вызывают медленно прогрессирующие эпизоотии с гибелью птицы менее 5%. В любом случае при большом скоплении птицы инфекция распространяется быстро, о чем свидетельствуют серологические исследования. Кроме того, существует латентная форма инфекции, периодически рецидивирующая и персистентное носительство.



Чаще всего заболевание обостряется, когда к орнитозу присоединяются вторичные бактериальные, вирусные или паразитарные заболевания.

Заболевание начинается с признаков адинамии, отмечается «летаргическое» состояние птицы, при котором она чаще сидит или стоит с закрытыми глазами, голова и крылья опущены. Оперение тусклое, взъерошенное, загрязненное. Симптомы могут проявляться в той или иной степени в зависимости от стадии болезни. Клинические признаки при хламидиозе у птиц, обычно связаны с вовлечением респираторной системы: одышка, шумное придыхание, истечения из носа. Поражаются глаза, развивается светобоязнь, конъюнктивит в различной степени, кератиты вплоть до слепоты (Grimes, Wyrick, 1991).

При поражении пищеварительной системы – диарея. Помет жидкий, серо-зеленого цвета, происходит обезвоживание организма.

Поражение нервной системы проявляется необычным положением головы, конвульсивными движениями, опистотонус (верхняя часть согнутой головы достигает спины). Иногда наблюдается частичный или полный паралич конечностей. Нарушение координации движений.

Хроническое течение болезни сопровождается атрофией грудной мышцы, возможны артриты. Кожные поражения не являются основными, сопровождаются нарушением линьки, частичной аллопецией в области подкрылков, спины, образованием эритематозной сыпи, язвочек или струпов в области подкрылков, спины, сережек и гребня.

Патологоанатомические изменения разнообразны и зависят от вирулентности возбудителя, стадии инфекционного процесса, возраста и вида птицы.

При вскрытии трупов павших индеек с острой формой орнитоза обнаруживают: гнойно-фибринозные перикардиты, аэросаккулиты, перигепатиты, переполнение печени кровью со стазами, спленомегалию; сердце увеличенное, дряблое, бледное. В тканях – генерализованные васкулиты, гнойно-фибринозное воспаление перикарда и эпикарда, воздухоносных мешков и брюшины; ретикулоэндотелиальная гиперплазия в селезенке и печени. У некоторых фокальные и интерстициальные воспалительные очаги в легких и перевоскулярные воспалительные очаги в миокарде. Гнойно-фибринозные менингоэнцефалиты с большим количеством гистиоцитов и меньшим гетерофилов (полиморфнонуклеарные лейкоциты) и лимфоцитов в фибринозном экссудате. В цитоплазме гистиоцитов часто встречаются элементарные тельца хламидий.

При вскрытии трупов павших уток с острой формой течения болезни обнаруживают массовые крупозные, реже фибринозные пневмонии, в дальнейшем плевриты, перикардиты, перитониты и, как правило, полисерозиты. Помутнение стенок воздухоносных мешков, отложение фибринозного экссудата, фибринозный перикардит и перигепатит. В грудобрюшной полости – гиперемия кишечника, печень увеличена, рыхлая, с закругленными краями, с наличием бледных некротических очагов (обычно последствие бактериальных осложнений). Селезенка увеличена, темная, набухшая, капсула напряжена.

При латентно протекающей инфекции на вскрытии не отмечают специфических, характерных для орнитоза поражений. Наблюдают дряблость паренхиматозных органов. Селезенка увеличена, напряжена. Печень увеличена, желтоватого цвета. При обострении патологического процесса воздухоносные мешки мраморные, стенки утолщены, в полости сгустки фибрина. Фибринозный экссудат и гиперемия на брыжейке, брюшине, на серозной оболочке кишечника. В окологрудной сумке также наблюдается небольшое количество экссудата. В эякуляте производителей пониженная концентрация спермы, примесь крови, сперматозоиды малоподвижны.

Ущерб при хламидиозе складывается из низкой оплодотворяемости яиц (которая нередко достигает 25%), замирания эмбрионов в процессе инкубации (до 20%), выбраковки и отхода птенцов в первые дни жизни (до 30%), задержки роста и развития молодняка; ран-



ней выбраковки производителей (170 дней), снижению яйценоскости в 250–300 дней на 25–30%. Отсутствие правильного диагноза приводит к неэффективности проводимых лечебных мероприятий, тяжелому течению конкурентных инфекций, развивающихся на фоне хламидиоза, что влечет за собой дополнительные затраты.

Проведение диагностических исследований на орнитоз птиц допускается только в лабораториях, имеющих условия для работы с особо опасными инфекциями, при наличии разрешения на работу с возбудителями 1–2 групп опасности.

Работа с возбудителем орнитоза также может проводиться в ПЦР-лаборатории с предварительно инактивированным материалом, прогретым при +70...+80° С в течение 10 минут или залитым 0,5%-ным раствором фенола или гуанидинтиоционатом в концентрации 5,3 моль/л.

При постановке диагноза принимают во внимание стационарность заболевания в птицеводческом хозяйстве. Хламидиоз птиц характеризуется длительно рецидивирующим течением и полиморфностью клинических признаков. Симптоматическая терапия, как правило, не приносит желаемого результата. Заподозрить хламидиоз позволяет только сам факт неэффективного лечения больной птицы.

Наиболее рациональной и надежной мерой борьбы с хламидиозом птиц является специфическая профилактика или комбинированный способ – антибиотикотерапия + вакцинация (Терских И.И., 1979).

Зарубежными учеными был предпринят ряд попыток изготовления вакцин против хламидиоза птиц.

Более эффективной оказалась вакцина инактивированная эмульгированная в минеральном масле (Page L.A., 1978). В 1997 году методом генной инженерии учеными Бельгии Vanrompay D., Volckaert G. et. al была создана вакцина против хламидиоза индеек.

В 1962 году под руководством Терских И.И. разработана аэрозольная вакцинация инактивированной тканевой вакциной. Установлена ее безвредность и иммуногенность для людей. В настоящее время доказано, что вакцины против хламидиозов относятся к терапевтическим, в медицине есть опыт полного и достоверного излечения хронических форм орнитоза и трахомы, без применения антибиотиков. В 1993 году Щербань Г.П. изучая иммунный статус коров и телят до и после применения вакцины культуральной инактивированной против хламидиоза крупного и мелкого рогатого скота, было доказано, что эта вакцина не только профилактирует заболевание, но и обладает лечебным действием и может применяться на больных хламидиозом животных.

Для профилактики хламидиоза птиц разработана вакцина культуральная инактивированная против хламидиоза (орнитоза) птиц. Вакцина безвредна, ареактогенна, высоко иммуногенна. Важно отметить, что производство культуральной вакцины, является экологически безопасным, а сама вакцина более стабильна в иммунологическом отношении по сравнению с эмбриональной вакциной.

Возбудитель орнитоза *Chlamydophila psittaci* широко распространен в природе, этот уникальный микроорганизм способен отвечать на моделируемую против него защиту (химиотерапевтическими препаратами и иммунной системой микроорганизма) изменением, а затем восстанавливать свою структуру.

В связи с вышеизложенным считаем, что необходимо регулярно проводить плановую диагностическую работу в племенных птицеводческих хозяйствах не реже одного раза в год. Ввести обязательный контроль и учет популайных пород птиц, контроль их падежа и утилизации. В каждом конкретном случае назначать химиотерапию только после определения чувствительности изолята хламидий к антибиотикам, а после проведенных лечебно-профилактических мероприятий проводить контрольное выделение хламидий на культуре клеток. Продолжить изучение эффективности предлагаемой специфической профилактики орнитоза.



При получении стабильных положительных результатов приступить к серийному производству вакцины. Применение специфической профилактики против орнитоза птиц поможет значительно снизить случаи персистенции хламидий в стадах птиц, а также уменьшить распространение возбудителя в окружающей среде.

Эффективный метод диагностики инфекционных болезней кур

Хохлачев О. Ф.; Терюханов А. Б.; Серова Н. Ю.; Федорова Л. Л. – НПП «АВИВАК»

В последние годы в птицеводствах яичного направления все чаще отмечаются внезапные спады яйценоскости, сопровождающиеся снесением некондиционных яиц (декальцинированных, депигментированных, с измененной формой). Динамика подобных проявлений имеет различный характер: от неглубоких и непродолжительных (3–5% в течение 5–8 дней) до спадов на 15–45% продолжительностью 1–2 месяца. Анализ причин снижения яйценоскости и увеличения количества снесенных некондиционных яиц показал, что в большинстве случаев это является следствием нарушений в технологии содержания и кормления птиц. Но нередко отмечаются и ветеринарные проблемы. Среди которых чаще регистрируются инфекционный бронхит, синдром снижения яйценоскости и инфекционный энцефаломиелит кур.

Постановка своевременного и точного диагноза в случае инфекционной этиологии нарушений яйценоскости зачастую бывает затруднена, особенно при субклинической или латентной форме инфекции. В подобных случаях существует потребность в дополнительных диагностических тестах, позволяющих оперативно разобраться в ситуации.

В задачу наших исследований входило изучение возможности использования желтка куриных яиц разного качества для обнаружения антител к различным возбудителям инфекционных болезней, сопровождающихся нарушениями яичной продуктивности несушек.

По литературным данным известно, что антитела к возбудителям отдельных инфекционных болезней птиц могут обнаруживаться не только в сыворотке крови, но и в желтках яиц, полученных от вакцинированной, больной или переболевшей птицы. По мнению отдельных исследователей, выявление антител в желтках яиц является более достоверным тестом при определении напряженности поствакцинального иммунитета у птицепоголовья.

В настоящей работе представлены результаты лабораторного исследования желтка куриных яиц различного качества на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни (НБ), вирусу инфекционного бронхита кур (ИБК), вирусу синдрома снижения яйценоскости кур (ССЯ-76) и вирусу инфекционного энцефаломиелита птиц (ИЭМ).

Материалы и методы

Объектом изучения и анализа причин нарушения яичной продуктивности кур были промышленные и племенные птицеводства различных регионов России. В качестве материала для диагностических исследований использовали куриные яйца различной формы: нормальные, вытянутые, шарообразные, с поясками, «солнышко», «зефирные», а также имеющие шероховатую скорлупу, обесцвеченную скорлупу (для яиц, полученных от несушек с коричневым оперением), имеющих коричнево окрашенную скорлупу с темными крапинками и яйца в подскорлупной оболочке (бесскорлупные), полученные из птицеводств, где отмечались спады яйценоскости и снесение увеличенного количества некондиционных яиц.

Из яичных желтков готовили экстракты по предложенному ранее, но усовершенствованному нами методу. Для этого брали от каждого яйца отдельной пипеткой или дозатором



НПП «АВИВАК»

*Своевременная диагностика –
быстрое решение!*

Диагностический центр НПП АВИВАК



Высокий профессионализм наших специалистов, комплексный подход к решению проблем инфекционных болезней птиц –

ЗАЛОГ ВАШЕГО УСПЕХА!

ИФА тест-системы АВИВАК для диагностики

- инфекционного бронхита кур;
- инфекционной бурсальной болезни птиц;
- ньюкаслской болезни;
- реовирусного теносиновита;
- гриппа птиц;
- энцефаломиелита птиц;
- лейкоза птиц;
- респираторного микоплазмоза;
- инфекционного синовита;
- синдрома снижения яйценоскости.



BioChek
VETERINARY DIAGNOSTICS



с отдельным наконечником 1,5 мл желтка и суспендировали каждую пробу в отдельной центрифужной пробирке с 6,0 мл физраствора. Затем в пробирки вносили по 2,0 мл хлороформа и тщательно перемешивали смесь встряхиванием, после чего вносили по 1,0 мл диэтилового эфира и вновь перемешивали компоненты встряхиванием. После этого смесь прогревали в водяной бане при температуре +37° С в течение 30 минут и центрифугировали 15 минут при скорости 3000 об / мин. Полученная при этом в верхней части пробирок прозрачная, слегка опалесцирующая надосадочная жидкость и являлась экстрактом яичного желтка в исходном разведении 1:5. При этом в каждом отдельном случае использовали не менее 20 штук яиц различного качества.

Наличие и уровень антител к вирусу ИБК и ИЭМ определяли в ИФА, используя диагностические тест-системы и программное обеспечение «ИФА-АВИВАК».

Исследование экстрактов желтка с целью обнаружения антиагглютинирующих антител к вирусу НБ и ССЯ-76 проводили в РТГА с инактивированными антигенами вируса НБ, штамм «Ла-Сота» и ССЯ-76, штамм «В 8/78» в рабочем разведении 4 ГАЕ/0,025 мл.

Одновременно с экстрактами яичного желтка в каждом случае исследовали сыворотку крови кур из этих же птицевладельцев.

Результаты исследований и обсуждение

Полученные результаты исследований показали, что специфические антитела к вирусу ИБК, НБ, ССЯ-76 и ИЭМ обнаруживались как в сыворотках крови, так и в экстрактах яичного желтка. При этом установлено, что уровень антител находится в прямой зависимости от эпизоотической ситуации в хозяйстве и применяемой схеме вакцинопрофилактики перечисленных инфекционных болезней птиц.

При этом было установлено, что уровень антител в желтках некондиционных яиц был значительно выше, чем уровень антител в сыворотках, полученных от кур из одних и тех же птичников. И это вполне объяснимо, так как для диагностических исследований использовали дефектные яйца, полученные предположительно от больных несушек, в то время как пробы крови были взяты общепринятыми методами случайной выборки из разных мест птичника, что не исключало возможности серологического исследования птиц, в разной степени пораженных инфекцией или даже здоровых (вакцинированных).

Дополнительно было обнаружено, что уровень желточных антител существенно различался в зависимости от качества яиц. Эти данные представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Результаты исследования желтков куриных яиц различного качества на наличие антител к вирусу ИБК и ИЭМ

Качество яиц	Количество, (шт.)	ИБК		Средний титр антител	Пороговые значения		
		Титр антител в интервале значений			НП	ПЛ	ВП
		Min	Max				
1	2	3	4	5	6	7	8
1. Нормальное	20	2871	9636	6220	–	20	–
2. Вытянутое	20	3295	8189	6913	–	20	–
3. Шарообразное	20	2395	6627	5102	–	20	–
4. С поясками	20	3168	18126	12550	–	18	2
5. В крапинку	20	2234	9984	4723	–	20	–
6. Шероховатое	20	3718	11409	7236	–	17	3
7. «Солнышко»	20	14429	31374	26663	–	–	20
8. Обесцвеченное	20	6921	17511	10804	–	16	4



1	2	3	4	5	6	7	8
9. «Зефирное»	20	13032	30049	21252	–	–	20
10. Бесскорлупое	20	5981	19607	12494	–	12	8
ИЭМ							
1. Нормальное	20	2966	4843	3880	–	19	1
2. Вытянутое	20	2721	4592	3546	–	20	–
3. Шарообразное	20	2882	5248	3925	–	18	2
4. С поясками	20	2619	3546	2866	–	20	–
5. В крапинку	20	2707	4015	3012	–	20	–
6. Шероховатое	20	452	1784	1415	4	16	–
7. «Солнышко»	20	890	3313	2493	3	17	–
8. Обесцвеченное	20	430	2205	1784	6	14	–
9. «Зефирное»	20	1256	2589	2107	–	20	–
10. Бесскорлупное	20	1103	3167	2121	–	20	–

Таблица 2. Результаты исследования желтков куриных яиц различного качества на наличие антител к вирусу НБ и ССЯ-76

Качество яиц	Кол-во проб желтка, (шт.)	Титр специфических антигемагглютинирующих антител										Средн. титр антител
		0	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
НБ												
1. Нормальное	20			2	4	2	8	4				1:292
2. Вытянутое	20		2	3	1	4	6	4				1:268
3. Шарообразное	20		1	2	5	5	3	4				1:241
4. С поясками	20		3	1	4	4	6	2				1:207
5. В крапинку	20		1	3	3	3	5	5				1:283
6. «Солнышко»	20	1	2	5	2	6	3	1				1:148
7. Шероховатое	20		2	4	4	7	2	1				1:146
8. Обесцвеченное	20		3	2	6	6	2	1				1:143
9. «Зефирное»	20		2	3	7	4	3					1:116
10. Бесскорлупное	20		5	5	5	3	2					1:91
ССЯ-76												
1. Нормальное	20			2	5	6	4	3				1:232
2. Вытянутое	20		2	2	6	5	4	2				1:198
3. Шарообразное	20		3	4	3	3	5	2				1:191
4. С поясками	20		1	3	2	8	4	2				1:207
5. В крапинку	20		2	2	4	4	6	2				1:214
6. «Солнышко»	20			1	4	6	5	3	1			1:306
7. Шероховатое	20		1		1	3	6	6	2	1		1:573
8. Обесцвеченное	20					1	3	5	4	2		1 2008
9. «Зефирное»	20			1	2	1	5	8	2	1		1:610
10. Бесскорлупное	20						1	4	0	3	6	1 2448



Желтки кондиционных (нормальных) яиц и яиц с незначительными изменениями формы и цветности скорлупы (в табл. п/п 1–5) содержали антитела в относительно невысоких однородных титрах в пределах «вакцинных» значений в большинстве случаев вне зависимости от наименования болезни, что подтверждали результатами исследований сыворотки крови кур.

В желтках некондиционных яиц (в табл. п/п 6–10) обнаружены антитела в высоких диагностически положительных титрах в случае ИБК и ССЯ-76, в то время как на НБ и ИЭМ уровень антител был ниже. При этом максимально высокие значения титров антител, как индивидуальных, так и групповых, на ИБК выявлены в случае «зефирных» (уродливых) яиц и в случае «солнышко» (яиц с плоским участком на скорлупе, окруженным плотным валиком, с отходящими от него складками скорлупы в виде лучей).

Максимально высокий уровень антигемагглютинирующих антител к вирусу ССЯ-76 был выявлен в желтках бесскорлупных яиц и у яиц с обесцвеченной скорлупой.

Были также проведены диагностические исследования желтков яиц, полученных из птицеводства, в котором отмечено снижение яичной продуктивности на 12%, продолжительностью 28 дней и возросло до 3,4% количество снесенных некондиционных яиц, имеющих, в основном, измененную форму («зефирных»).

Результаты исследований показали наличие высоких диагностически положительных и неоднородных титров антител на ИБК в желтках некондиционных яиц, в то время как желтки нормальных яиц содержали антитела в интервале однородных «вакцинных» титров. Эти данные представлены в табл. 3. При этом серологически было установлено, что переболевание птицы произошло ориентировочно в возрасте 210–240 дней. Здесь необходимо отметить, что болезнь протекала в субклинической форме при нормативной сохранности кур-несушек.

Таблица 3. Результаты исследования в ИФА экстрактов желтка куриных яиц разного качества на наличие антител к вирусам ИБК и ИЭМ

№ п/п	Птичник, возраст птиц, (дн.)	Качество яйца	Болезнь	Кол-во проб желтка, (шт.)	Титр антител в интервале значений						Средн. титр антител	Кол-во положит. проб, (%)
					Min	Max	Отриц.	НП	ПЛ	ВП		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ИБК												
1	145	норма	ИБК	10	4645	10854			4	6	8896	100
2	145	некондиция	ИБК	10	3008	8938			7	3	6580	100
3	260	норма	ИБК	10	5911	15016			2	8	10820	100
4	260	некондиция	ИБК	20	1048	19260			6	14	13251	100
5	330	норма	ИБК	10	2655	12457			4	6	9631	100
6	330	некондиция	ИБК	20	1336	30486			2	18	25744	100
7	440	норма	ИБК	10	1925	10363				5	6216	100
8	440	некондиция	ИБК	20	3553	23860			4	16	14199	100
9	520	норма	ИБК	10	627	8870		1	4	5	4927	100
10	520	некондиция	ИБК	10	5692	24792			1	9	15205	100
ИЭМ												
11	145	норма	ИЭМ	10								
12	145	некондиция	ИЭМ	10								
13	260	норма	ИЭМ	10			10				26	0



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
14	260	некондиция	ИЭМ	20			20				21	0
15	330	норма	ИЭМ	10			10				65	0
16	330	некондиция	ИЭМ	20			20				65	0
17	440	норма	ИЭМ	10	0	865	9	1			96	10
18	440	некондиция	ИЭМ	20	0	1713	18	1	1		144	10
19	520	норма	ИЭМ	10			10				42	0
20	520	некондиция	ИЭМ	10			8	2			181	20

В результате серологических исследований на ИЭМ не было обнаружено антител, что указывает на благополучие птицеводства по этой болезни (в хозяйстве не проводится вакцинация птицы против ИЭМ). Исследования на ИБ и ССЯ-76 показали наличие во всех случаях антител в интервале «вакцинных» титров.

Таким образом, было установлено, что основной причиной снижения яйценоскости в хозяйстве и увеличения количества снесенных некондиционных яиц явился вирус инфекционного бронхита кур.

Заключение

В птицеводствах возросло количество случаев внезапного снижения яичной продуктивности кур-несушек, сопровождающегося ухудшением качества яиц. В числе возможных причин этого отмечены как технологические факторы, так и ветеринарные проблемы, в том числе инфекционный бронхит кур и синдром снижения яйценоскости-76. В комплексе мер по диагностике этих болезней решающее значение имеют лабораторные методы исследования, направленные на обнаружение специфических антител в сыворотке крови и желтках яиц, полученных от предположительно больных кур. При этом установлено, что исследование желтков яиц различного качества позволяет не только оперативно и достоверно поставить диагноз, но и провести дифференциальную диагностику инфекционных болезней кур в зависимости от качества яиц.

Сравнительные испытания методов и тест-систем при серодиагностике инфекционных болезней птиц

Серова Н. Ю.; Хохлачев О. Ф.; Сапегина Е. В.; Федорова Л. Л. – НПП «АВИВАК»

Достижения современной науки значительно расширили практические возможности при диагностике инфекционных болезней птиц. С развитием гибридной технологии и приемов молекулярного клонирования разработаны новые и совершенствуются уже известные методы иммунного анализа. Это позволяет ветеринарным специалистам птицеводств еще более оперативно и достоверно контролировать иммунный статус птицепоголовья и обеспечивать эпизоотическое благополучие хозяйств.

Российский ветеринарный рынок диагностических биопрепаратов для птицеводства в настоящее время широко представлен препаратами отечественного и зарубежного производства. Среди них достойное место занимают тест-системы на основе непрямого твердофазного вариантов иммуноферментного анализа «ИФА-АВИВАК» (Россия) и ELISA-«BioChek» (Голландия).

В задачу наших исследований входило сравнительное изучение тест-систем «ИФА-АВИВАК» и ELISA-«BioChek» по основным тестируемым показателям – специфичности и чувст-



вительности при серодиагностике инфекционного бронхита кур (ИБК, IBV), инфекционной бурсальной болезни (ИББ, IBD), инфекционного энцефаломиелита (ИЭМ, AE), респираторного микоплазмоза (МГ, MG) и инфекционного синовита (МС, MS).

Дополнительно проведено сравнение двух методов диагностики синдрома снижения яйценоскости кур (ССЯ-76, EDS'76) в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и в ИФА с использованием тест-системы ELISA-«BioChek».

Материалы и методы

В работе использовали коммерческие наборы на основе непрямого твердофазного варианта иммуноферментного анализа для определения антител к вирусу ИБК, ИББ, ИЭМ, ССЯ-76, а также МГ и МС производства НПП «АВИВАК» и «BioChek». Постановку ИФА проводили в соответствии с инструкцией к каждому набору. Пробы исследуемых сывороток разводили в соотношении 1:400 для «ИФА-АВИВАК» и 1:500 для «BioChek». Учет результатов реакции осуществляли с помощью диагностических компьютерных программ «ИФА-АВИВАК» и «BioChek» с измерением оптической плотности на спектрофотометре «SLT» при длине волны 405 нм.

Реакцию торможения гемагглютинации ставили общепринятым методом с инактивированным антигеном вируса ССЯ-76, штамм «В8/78» в рабочем разведении 4 ГАЕ/0,025 мл. Среднюю величину титра специфических антигемагглютининов определяли по Brugh J.

В работе использовали «парные» пробы сыворотки крови, полученные от вакцинированных цыплят и кур разного возраста из птицеводств различных регионов РФ. Сыворотки не содержали консервантов и до исследования хранились при температуре -24° С. Для РТГА сыворотку инактивировали при +56° С в течение 30 минут.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты исследований ИФА и РТГА представлены в табл. 1, 2 и на рис. 1-16.

Таблица 1. Средний титр антител при исследовании сыворотки крови кур в «ИФА-АВИВАК» и «BioChek»

Птичник	Возраст, (дн.)	ИБК		ИББ		МС		ИЭМ		МГ	
		«АВИВАК»	«BioChek»								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2	84	4071	4682	19283	20451	265	130	245	318	12399	3565
2	98	3817	4335	20024	21596	1206	2393	167	553	8173	1292
2	126	3508	4452	14057	17026	7291	5019	4556	10713	10553	1171
2	163	7066	5922	16346	18348	6692	4324	5315	12042	19425	4685
9	70	5835	7914	19387	20156	42	979	151	2016	579	1345
9	84	4480	5480	18223	18614	56	109	84	292	842	396
9	98	4392	4396	19322	19250	397	124	294	523	3550	1035
9	164	3939	7747	15722	19334	9293	10140	6596	15536	38073	8123
11	70	5323	7370	19574	19915	137	129	274	282	6222	1532
11	84	2284	5310	19957	20569	182	375	46	434	5513	1093
11	98	3086	4028	22451	22192	291	912	80	906	9555	2074
11	126	4015	4985	20250	18866	3628	6574	3074	7138	20642	4542

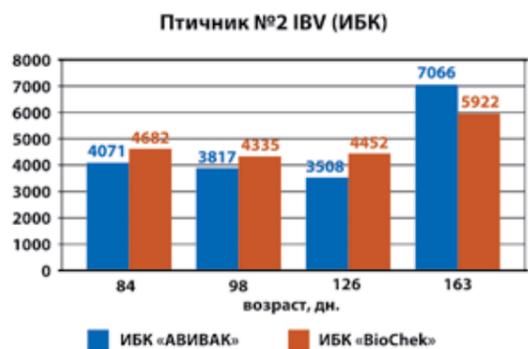


Рис. 1

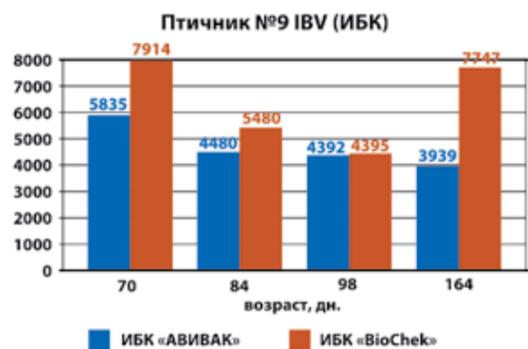


Рис. 2

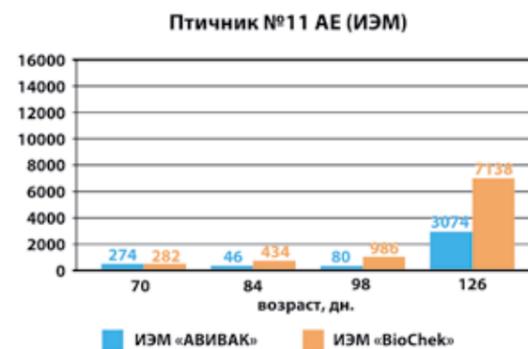


Рис. 9

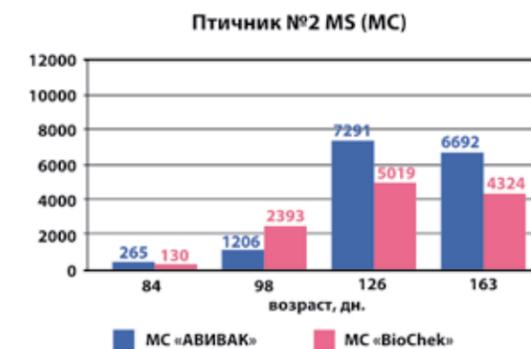


Рис. 10

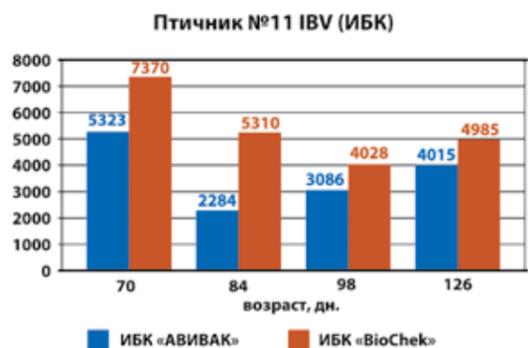


Рис. 3

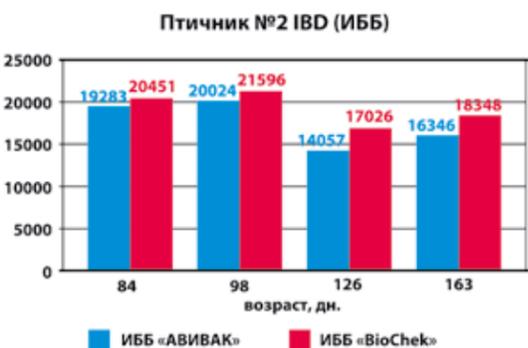


Рис. 4

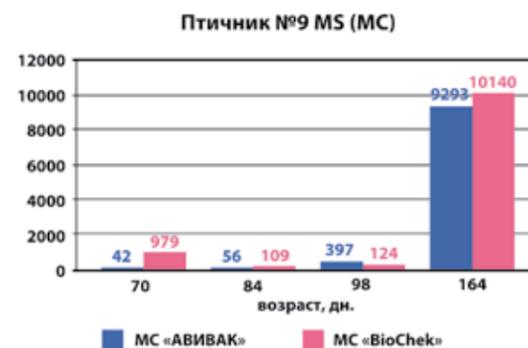


Рис. 11

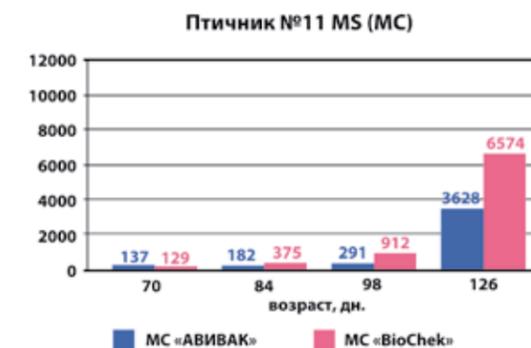


Рис. 12

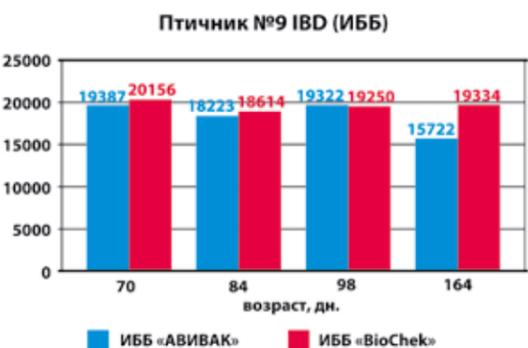


Рис. 5

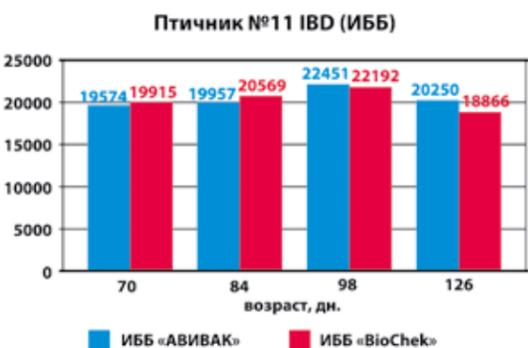


Рис. 6

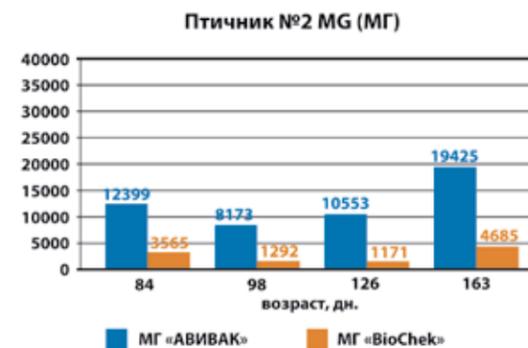


Рис. 13

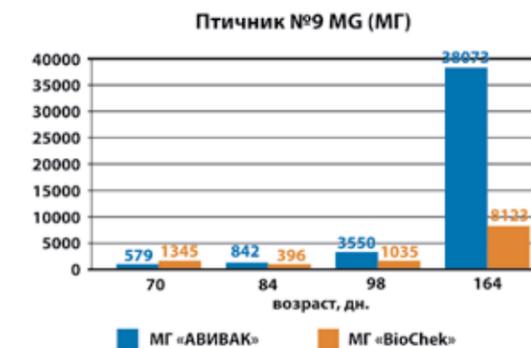


Рис. 14

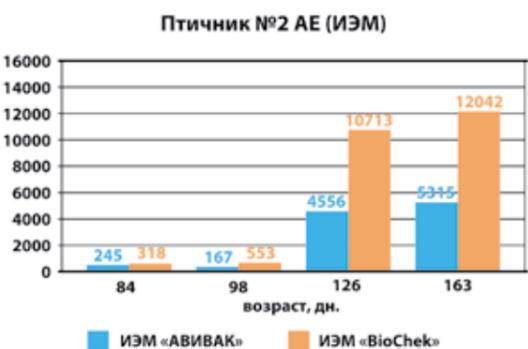


Рис. 7

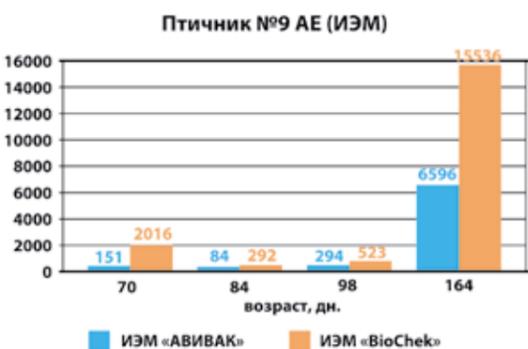


Рис. 8

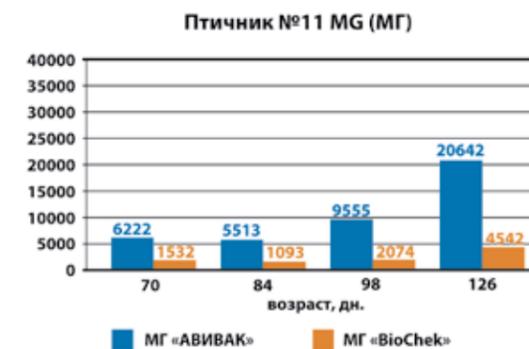


Рис. 15

Таблица 2. Результаты исследования сыворотки в ELISA «BioChek» и РТГА на наличие антител к вирусу ССЯ–76

Птичник	Возраст, дн.	Средние значения уровня антител			
		ELISA–«BioChek»		РТГА	
		Титр	Титрогруппа	Разведение	Log ₂
1	2	3	4	5	6
2	126	2414	2,8	16	2,8
2	163	11636	8,3	333	7,2
5	168	12595	8,6	435	8,5
9	164	4945	4,9	65	4,6
11	126	1634	2,4	37	3,2
14	126	2095	4,0	90	4,3
18	126	3969	4,7	105	5,8
18	163	12328	8,6	314	7,4



Рис. 16. Результаты исследования сыворотки в ELISA «BioChek» и РТГА на наличие антител к вирусу ССЯ–76

При анализе полученных результатов ИФА-исследований установлена сравнительно высокая эффективность испытываемых тест-систем. Выявленный уровень сероконверсии при оценке качества поствакцинального иммунитета у птиц разных возрастных групп показал одинаково высокую специфичность испытываемых тест-систем. При анализе полученных данных в отношении чувствительности установлена идентичность тест-систем по ИББ (IBD), ИБК (IBV) и МС (MS). Тест-системы «BioChek» показали более высокую чувствительность по ИЭМ (AE), однако были сравнительно менее чувствительны в отношении МГ (MG).

При исследовании в ИФА и РТГА сыворотки крови кур, привитых против ССЯ–76 – инфекции инактивированной эмульсионной вакциной, получены относительно сопоставимые результаты. Напряженность поствакцинального иммунитета у птиц в ИФА составила 100%, в РТГА – 90%. Незначительные различия можно объяснить требованиями инструкции в оценке качества поствакцинального иммунитета у птиц к ССЯ–76 при исследовании различными методами. Установлено также, что величина значений РТГА-титров сывороточных антител, выраженная в log₂, соизмерима с таковой в ELISA-титрогруппах.

Заключение

1. Установлено, что тест-системы «ИФА–АВИВАК» и ELISA–«BioChek» в равной степени могут использоваться для оценки качества поствакцинального иммунитета у кур.

2. ИФА с использованием тест-системы «BioChek» и реакция торможения гемагглютинации (РТГА) сравнительно соизмеримы и позволяют проводить контроль напряженности поствакцинального иммунитета у птиц к ССЯ–76.

СОДЕРЖАНИЕ

Приветственное слово	2
Фисинин В. И.	
Состояние и перспективы развития отрасли птицеводства.	3
Бобылева Г. А.	
Нанотехнологии – путь к созданию новых вакцин для птицеводства	9
Придыбайло Н. Д.	
Вакцинация – основа эпизоотического благополучия птицеводств	12
Хохлачев О. Ф.; Калинин А. Н.; Гаврилов С. Н.; Серова Н. Ю.	
Патотипирование полевых изолятов вируса болезни Марека методом «best fit».	20
Дудникова Е. К.; Норкина С. Н.; Власов А. Н.; Джулардов Г. В.; Lucy F. Lee; Richard L. Witter	
Аттенуация вирулентных штаммов первого серотипа ВБМ и изучение их протективных свойств	26
Дудникова Е. К.; Норкина С. Н.; Власов А. Н.; Джулардов Г. В.; Richard L. Witter	
Инфекционный бронхит кур (на заметку практикующему врачу)	30
Николаева И. П.	
Оценка протективных свойств вакцины «АВИВАК–ИБК» из штамма Н–120.	34
Бахарева Н. В.; Козаков С. Л.; Кузовлева А. Г.; Норкина С. Н.; Терентьева Е. В.	
Ассоциированное течение инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости кур	36
Хохлачев О. Ф.; Терюханов А. Б.	
Опыт применения вакцины «АВИВАК ИББ–АН» в лабораторных и производственных условиях	43
Соколов В. В.; Калинин А. Н.; Норкина С. Н.	
Экспериментальные и производственные испытания вакцины «АВИВАК–ИЛТ»	45
Панкратов С. В.; Крон Н. В.; Гаврилов С. Н.; Кононенко Е. В.	
Инактивированная эмульсионная вакцина против аденовирусного гепатита с включениями – гидроперикардита птиц	48
Панкратов С. В.; Придыбайло Н. Д.; Крон Н. В.	
Вакцина против оспы птиц	50
Николаева И. П.; Калинин А. Н.	
Эффективность ассоциированных вакцин против вирусных и микоплазменных инфекций	52
Рождественская Т. Н.; Панкратов С. В.; Белкин В. А.; Гаврилов С. Н.	
Респираторный микоплазмоз птиц: особенности эпизоотологии, диагностики и профилактики.	55
Рождественская Т. Н.; Борисенкова А. Н.; Панкратов С. В.; Кононенко Е. В.	

Проблемы антибиотикотерапии респираторного микоплазмоза птиц	60
Белкин В. А.	
Рекомендации по проведению микробиологического мониторинга вывода и выращивания цыплят	63
Рождественская Т. Н.; Борисенкова А. Н.; Новикова О. Б.; Чавгун В. А.; Бовкун Г. Ф.	
Респираторный синдром бактериальной этиологии у птиц	70
Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н.	
Программа обеспечения эпизоотического благополучия птицеводств в отношении бактериальных болезней птиц	75
Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н.	
Программа профилактики и оздоровления хозяйств от сальмонелла-энтеритидис – инфекции птиц	85
Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н.; Новикова О. Б.; Жук И. П.; Байбиков Ю. И.	
Специфическая профилактика Salmonella enteritidis – инфекции птиц	93
Рождественская Т. Н.	
Колибактериоз птиц: факторы патогенности возбудителя и профилактика болезни	96
Рождественская Т. Н.	
О проблеме кампилобактериоза в птицеводстве	100
Борисенкова А. Н.; Рождественская Т. Н.; Новикова О. Б.	
Орнитоз – хламидийная инфекция птиц	102
Данченко Г. Н.	
Эффективный метод диагностики инфекционных болезней кур.	108
Хохлачев О. Ф.; Терюханов А. Б.; Серова Н. Ю.; Федорова Л. Л.	
Сравнительные испытания методов и тест-систем при серодиагностике инфекционных болезней птиц	112
Серова Н. Ю.; Хохлачев О. Ф.; Сапегина Е. В.; Федорова Л. Л.	

Сборник составлен Кононенко Е. В. под редакцией Рождественской Т. Н.

Подписано в печать 21.06.2010 г. Формат 210x297.
Печать офсетная. Тираж 700 экз. Заказ № 547.
Отпечатано в типографии ООО «Фирма «Алина»,
197101, Санкт-Петербург, Петроградская наб., 34, лит. Л.
Тел. (812) 603 21 74, тел./факс (812) 603 21 75

Компьютерная верстка Плисюк С. А.



АВИВАК

НПП «АВИВАК» –
*гарантия здоровья
Вашей птицы*



WWW.AVIVAC.COM



НПП «АВИВАК»

АВИВАК-ОСПА

КУЛЬТУРАЛЬНАЯ
ВАКЦИНА
ПРОТИВ ОСПЫ ПТИЦ
(ШТАММ «К»)
С РАЗБАВИТЕЛЕМ



*Гарантия здоровья
вашей птицы*



НПП «АВИВАК»

СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ РАЗРАБОТКИ
И ПЕРЕДОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОГО ПТИЦЕВОДСТВА

188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
Тел.: (812) 346-58-54, 346-58-53
Факс: (812) 703-11-52
E-mail: AVIVAC@sovintel.ru

105120, Москва,
3-й Сыромятнический пер., д. 3/9
Тел.: (495) 785-18-01 (многоканальный)
E-mail: AVIVAC@list.ru



WWW.AVIVAC.COM