

**Министерство образования и науки Кыргызской Республики
Кыргызский Национальный Аграрный университет
имени К.И. Скрябина**

Диссертационный совет Д. 06.11.037

На правах рукописи
УДК 619:616.3:636.2:636.3

Баянтасова Светлана Максатовна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ**

06.02.02 - ветеринарная микробиология,
вирусология, эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Бишкек – 2013

Диссертационная работа выполнена в Западно-Казахстанском аграрно-техническом университете имени Жангир хана, в Западно-Казахстанской научно-исследовательской ветеринарной станции (НИВС).

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Таубаев Утеген Байргалиевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Акназаров Бекболсун Камчыбекович

кандидат ветеринарных наук
Искембаева Гульмайрам Асановна

Ведущая организация – ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», г. Саратов, Российская Федерация

Защита диссертации состоится 27 февраля 2013г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д.06.11.037 при Кыргызском национальном аграрном университете им. К.И.Скрябина по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызского национального аграрного университета им. К.И.Скрябина по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68.

Автореферат разослан «_____» _____ 2013 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат ветеринарных наук**

Крутская Е.Д.

Общая характеристика работы

Актуальность темы диссертации. Особое место среди заболеваний молодняка занимают инфекционные энтериты новорожденных телят и ягнят, так называемые неонатальные диареи, обусловленные агентами вирусной и бактериальной природы, а также их ассоциациями. Исследованиями, проведенными за последние годы, было неопровержимо доказано, что основную роль в возникновении диареи у телят и ягнят играют вирус диареи, рота-, коронавирусы, а также энтеропатогенные штаммы *E. coli*, сальмонеллы, протей, клебсиеллы.

В борьбе с кишечными инфекциями большое значение имеет серопрофилактика.

В настоящее время, в какой-то мере вопросы специфической профилактики сальмонеллеза в нашей стране разработаны (Б. А. Матвиенко, 1986; А. Ж. Макбузов, К.Б. Бияшев, О.Ш. Байтурина, К.А. Тулкибаев, 1991; К.Б. Бияшев, 1992). Однако меры борьбы с эшерихиозом, сальмонеллезом и клебсиеллезом все еще остаются недостаточно разработанными.

К числу мероприятий, направленных на повышение общей резистентности организма животных, сохранение поголовья животных относится применение с лечебно-профилактической целью гипериммунных сывороток.

Иммунизация новорожденных телят и ягнят не дает эффекта в связи с неразвитой иммунной системой. Поэтому изыскание и изучение биологически активных веществ, повышающих общую резистентность организма животных и их жизнестойкость к заболеваниям, является весьма актуальной.

В нашей республике широко применялась поливалентная антитоксическая сыворотка против паратифа и колибацеллеза телят, ягнят и птиц, которая готовилась на Алматинском биокомбинате. Однако в настоящее время нигде не производят этот препарат.

В этой связи проблема получения поливалентной сыворотки и изучение ее действия на организм здоровых и больных животных сальмонеллезом, эшерихиозом и клебсиеллезом имеет большое теоретическое и практическое значение.

Цель и задачи исследований. Основной целью исследования являлось усовершенствование схем гипериммунизации с целью получения от животных продуцентов высокоактивной поливалентной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза животных и изучение влияния препарата на организм телят, ягнят в норме и патологии. Растущий из года в год спрос на этот препарат требует разработки и удешевления технологии производства, повышение специфической активности,

транспортабельности и увеличение сроков хранения препарата. Для достижения этой цели были определены следующие основные задачи:

1. Изучить степень распространения заболеваний телят и ягнят сальмонеллезной, эшерихиозной и клебсиеллезной этиологии в ряде хозяйств Западно-Казахстанской области.

2. Разработать рациональные методы получения высокоактивной поливалентной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

3. Изучить динамику формирования гуморального иммунитета при иммунизации животных антигенами, приготовленными из культур сальмонелл, эшерихий и клебсиелл.

4. Изучить лечебные и профилактические свойства поливалентной гипериммунной сыворотки на телятах и ягнятах.

5. Разработать и внедрить технологию изготовления, методы контроля и применения поливалентной гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

Научная новизна. Изучена этиология падежа новорожденных телят и ягнят в ряде хозяйств Западно-Казахстанской области. Причиной заболевания животных явились сальмонеллезная, эшерихиозная и клебсиеллезная инфекции, протекающие в моно- и смешанной форме.

Разработаны критерии отбора культур сальмонелл, эшерихии и клебсиелл в качестве антигена для гипериммунизации животных-продуцентов. Разработана рациональная схема гипериммунизации животных, позволяющая значительно сократить сроки иммунизации животных и в 10-20 раз уменьшить расход антигена по сравнению с применяемой схемой иммунизации волов. Впервые для иммунизации животных - продуцентов в качестве антигенов использованы производственные штаммы сальмонелл, клебсиелл и адгезинпозитивные штаммы эшерихий с целью получения от животных высокоактивной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

Проведена сравнительная оценка гуморального иммунного ответа у животных-продуцентов, иммунизированных поливалентным антигеном, приготовленным из культур сальмонелл, эшерихий и клебсиелл.

Связь темы диссертации. Научно - исследовательская работа по данной проблеме выполнялась в соответствии с тематическим планом лаборатории биотехнологии инженерного профиля научно-исследовательского института ЗКАТУ имени Жангир хана по теме: «Разработка молекулярно-генетических методов оценки для определения эффективности применения препаратов при различных инфекционных болезнях животных», № государственной регистрации 01009РК00140.

Практическая значимость полученных результатов. Комплексное исследование причин падежа новорожденных телят и ягнят позволило

установить, что заболевания вызывались сальмонеллами, эшерихиями и клебсиеллами, протекающими в моно - и смешанной форме.

Теоретическая новизна работы состоит в том, что доказана этиологическая роль адгезинпозитивных культур эшерихий в заболевании животных, что важно как для планирования противоэпизоотических мероприятий, так и для организации лабораторной диагностики.

Получены материалы по разработке критериев отбора культур сальмонелл, эшерихий и клебсиелл, использованных в качестве антигена при гипериммунизации животных – продуцентов, позволяющие улучшить стандартность препарата, значительно упрощает технологический процесс производства препарата.

Практическая значимость работы состоит в том, что разработаны рациональные методы получения высокоактивной поливалентной гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

Использование поливалентной сыворотки в комплексе мероприятий по профилактике и лечению сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза позволяет снизить заболеваемость среди здоровых животных более чем в 3-4 раза.

Применение поливалентной гипериммунной сыворотки в различных хозяйствах Западно-Казахстанской области позволило значительно снизить заболеваемость и гибель животных, а также новорожденного молодняка от сальмонеллезной, эшерихиозной и клебсиеллезной инфекции.

Внедрение результатов исследований. С разрешения областного сельскохозяйственного департамента Западно-Казахстанской области поливалентная гипериммунная сыворотка против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза с лечебной и профилактической целью широко применялась в хозяйствах Западно-Казахстанской области, неблагополучных по данным заболеваниям.

Поливалентная сыворотка испытана на новорожденных ягнятах и телятах с экономическим эффектом 15 тенге на один затраченный тенге.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены и обсуждены на:

- ежегодных научно – практических конференциях профессорско-преподавательского состава, аспирантов и соискателей Западно-Казахстанского аграрного - технического университета имени Жангир хана (1999-2009)

- международных научно-практических конференциях молодых ученых и аспирантов (1999-2009)

- на расширенном межкафедральном заседании Западно-Казахстанского аграрного - технического университета (2009)

Основные положения исследования, выносимые на защиту:

- доказана сальмонеллезная, эшерихиозная и клебсиеллезная этиология заболеваний телят и ягнят в моно- и смешанной форме,
- разработана рациональная схема гипериммунизация животных - продуцентов, позволяющая значительно упростить технологический процесс производства высокоактивной поливалентной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза,
- поливалентная сыворотка против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза обладает высокими лечебными и профилактическими свойствами,
- разработана и внедрена в практику гипериммунная сыворотка против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 работ. Разработаны рекомендации по желудочно-кишечным заболеваниям телят и ягнят и мерам борьбы с ними.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 101 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Материалы диссертации иллюстрированы 19 таблицами. В библиографии 125 источников.

Основное содержание диссертации

Во введении обоснована актуальность темы исследований. Приведены данные о степени распространения заболеваний телят и ягнят сальмонеллезной, эшерихиозной и клебсиеллезной этиологии в ряде хозяйств Западно-Казахстанской области. Определены рациональные методы получения гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

В главе 1 «Обзор литературы» приведены результаты исследований отечественных и зарубежных ученых по критериям отбора культур эшерихий, сальмонелл и клебсиелл в качестве антигена для иммунизации животных-производителей. Изучены рациональные схемы гипериммунизации животных, позволяющие значительно сократить сроки иммунизации животных.

В главе 2 «Материал и методы исследований» материалом для бактериологического и серологического исследований служили различные органы (почки, печень, селезенка, легкие, желчный пузырь, лимфатические узлы) от павших новорожденных телят и ягнят из различных хозяйств Западно-Казахстанской области.

Для получения первичных культур использовали следующие питательные среды: ВСА, Эндо, Плоскирева. Первичный отбор культур проводился на основании особенностей роста на средах и микроскопии препаратов из отдельных колоний.

У выделенных культур изучали морфологические, культуральные, биохимические свойства по общепринятым схемам (Н.И. Розанов, 1952). Вирулентность выделенных культур определялась путем постановки биопробы на лабораторных животных. Выборочно проверена чувствительность выделенных культур к антибиотикам.

Второй частью нашей работы являлось изучение различных схем гипериммунизации животных с целью получения от них гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза телят и ягнят. Основная задача – изменить существующую схему иммунизации и взятия крови у продуцентов в сторону возможного сокращения, при этом сохраняя высокую активность сыворотки.

При гипериммунизации крупного рогатого скота были использованы 2 штамма *S.dublin*, 2 штамма *E.coli* и 2 штамма *K.pneumoniae*, выделенные от павших ягнят и телят.

Характеристика использованных штаммов в качестве антигенов при гипериммунизации крупного рогатого скота приводятся в соответствующих главах.

Иммунная перестройка в организме, которая проявляется к антигенам вводимым в организм, изучалась путем определения специфических противосальмонеллезных, противоэшерихиозных и противоклебсиеллезных агглютининов, с содержанием лейкоцитов, общего белка, иммуноглобулинов.

Вирулентность выделенных культур испытана на белых мышах и морских свинках.

Результаты исследований

3.1. Этиология желудочно–кишечных заболеваний телят и ягнят в Западно-Казахстанской области

Анализ ветеринарной отчетности по Западно-Казахстанской области по инфекционным заболеваниям показал, что эти болезни молодняка имеют значительное распространение среди поголовья крупного и мелкого рогатого скота, нанося большой экономический ущерб всем категориям хозяйств.

Нозологический профиль (нозологическая структура) болезней представляет собой перечень инфекционных болезней животных, зарегистрированных на территории области за определенный период времени.

По Западно-Казахстанской области за период 2004-2009гг. среди крупного и мелкого рогатого скота было зарегистрировано 12 инфекционных заболеваний, по которым учтено 352 неблагополучных пункта. При этом показатель заболеваемости всеми инфекционными болезнями составил 16675 голов, а летальность 1084 голов.

Соответственно на долю сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза приходится 6,8% неблагополучных пунктов и 1,72% заболевших животных, и 8,8% от общего числа павших животных.

К числу причин, сдерживающих развитие скотоводческой отрасли в Западно-Казахстанской области относится наличие болезней крупного и мелкого рогатого скота, в том числе и инфекционной природы, представленных 12 нозологическими единицами.

Так, согласно статистическим отчетным данным систематизация зарегистрированных неблагополучных пунктов по сальмонеллезу, эшерихиозу и клебсиеллезу крупного и мелкого рогатого скота в Западно-Казахстанской области выглядит следующим образом.

По данным Западно-Казахстанской области за период 2004-2009 года зарегистрировано 20 неблагополучных по желудочно – кишечным заболеваниям пунктов в 6 районах области. Необходимо отметить, что в Бокейординском, Жангалинском, Жанибекском и Каратюбинском районах за отчетный период не регистрировались случаи сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза крупного и мелкого рогатого скота.

Наиболее часто случаи заболевания телят и ягнят сальмонеллезом, эшерихиозом и клебсиеллезом регистрировались в следующих районах: Акжайкском -3, Теректинском - 2; Бурлинском-5; Зеленовском-3; Казталовском-2; Таскалинском-2; Чингирлауском-2; Сырымском-1.

Самые высокие показатели неблагополучия среди крупного рогатого скота отмечены в следующих районах: Теректинском-37,8 %, Бурлинском-32,1 %, Чингирлауском-23,3 %, Таскалинском-21,3 %.

В следующих районах отмечены самые высокие показатели неблагополучия среди мелкого рогатого скота: Акжайкском-20,6%, Сырымском-18,2 %, Чингирлауском-12,4 %.

Изучая статистическую отчетность и учитывая мнения ветеринарных специалистов области, мы отмечаем, что основной причиной возникновения болезней молодняка являются несоблюдение зоогигиенических условий содержания и кормления маточного поголовья и рождения нежизнеспособного приплода.

Сложная эпизоотическая ситуация по заболеваемости желудочно-кишечного тракта, в частности у новорожденных телят сальмонеллезом, эшерихиозом и клебсиеллезом наблюдается в хозяйствах, занимающихся молочным скотоводством, где наряду с большой концентрацией животных имеет место нарушение технологии содержания и низкая культура ведения животноводства.

Материалом для бактериологического и серологического исследования явились патологический материал от клинически больных и павших телят и ягнят с признаками диареи, взятых в 10 хозяйствах Западно-Казахстанской области. Высевы проводили на ВСА, Эндо и

среде Плоскирева из костного мозга, печени, почек, селезёнки, легких, лимфатических узлов и желчного пузыря.

Первичный отбор культур проводился на основании роста на средах и микроскопии препаратов из отдельных колоний. Идентификации подвергнуто 168 выделенных культур: сальмонелл - 118 (70 %), кишечной палочки - 42 (25 %), клебсиелл - 8 (5 %). Выделенные культуры отсеивались на среды МПА и ПЖА для хранения.

С целью установления диагноза были проведены серологические исследования сыворотки крови от клинически больных телят и ягнят. Из исследованных проб сыворотки в 58,7 % были обнаружены антитела, положительно реагирующие с антигеном *S. typhimurium* в среднем титре 1:1600+213,6 и в 1,7 % - с антигеном *S. dublin* в среднем титре 1:1440+111,9. Антитела к возбудителю эшерихиоза в сыворотке крови были обнаружены у 28,7% клинически больных телят и у 30,9% клинически больных ягнят.

Следует отметить, что у 16,8% клинически больных телят и ягнят антитела в диагностических титрах находили одновременно к эшерихиям, сальмонеллам и клебсиеллам, что указывает на наличие смешанной эшерихиозно – сальмонеллезно - клебсиеллезной инфекции в исследуемых хозяйствах.

От больных и павших телят выделены культуры: эшерихий - 34 (89%); сальмонеллы - 95 (85%), клебсиеллы - 6 (75%), от больных и павших ягнят: эшерихий -8 (19%), сальмонеллы -23 (27%), клебсиеллы - 2 (25%).

Таким образом, болезни молодняка в хозяйствах Западно-Казахстанской области имеют сезонное проявление с наивысшим проявлением осенью и зимой у телят и ягнят до двухмесячного возраста. Проведенные клинико–эпизоотологические, бактериологические исследования показали, что причинами заболевания телят и ягнят являются эшерихии, сальмонеллы и клебсиеллы, протекающие в моно – и смешанной форме.

При идентификации 42 культур, выделенных от телят и ягнят установлено, что они относятся к *E.coli*. Следует отметить, что из 42 культур *E.coli*, 34 выделены от больных и павших телят и 8 культур *E.coli* от ягнят.

Идентификацию проводили монорецепторными сыворотками.

Выделенные культуры эшерихии обладали типичными культурально-биохимическими свойствами. На среде Эндо наблюдался рост в виде сочных круглых, гладких колоний красно - малинового цвета.

Ферментация с образованием кислоты и газа отмечалась на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, маннитом у всех 42 культур эшерихии. Все культуры эшерихии были подвижными, образовывали индол и не разжижали желатин.

Нами были проведены исследования по выявлению способности гемолизировать эритроциты у различных животных, культур эшерихии выделенных от павших и больных телят и ягнят.

По нашим данным из 42 культур эшерихий продуцировали гемотоксин 36 (87,3%), из них бета-гемотоксин 77,8%, альфа-гемотоксин - 10,5 %, дельта-гемотоксин - 1,1%, смешенного типа гемотоксин (бета - и альфа-гемотоксин) – 6 %.

Следует отметить, что из 36 культур эшерихий, продуцирующих гемотоксины были выделены от павших телят – 21 (56%) и павших ягнят – 15 (41%).

Нами изучена патогенность исследуемых культур эшерихий на телятах и ягнятах месячного возраста.

Таблица 1 - Результаты заражения телят и ягнят культурами эшерихий

№ п/п	Наименование культуры	Адгезивный антиген	Место выделения	Количество животных	Доза введения (КОЕ)	Результаты заражения		
						пало	выжило	примечание
1.	E.coli 25	K-88	от павших телят	2	5×10^9	1	1	Тяжело переболел
2.	E.coli 45	K-99	от павших телят	2	10^{10}	2	-	
3.	E.coli 65	F-41	от павших ягнят	3	5×10^9	2	1	Тяжело переболел

Примечание: Срок наблюдения за опытными животными 15 суток

Животных заражали внутрибрюшинно суточной агаровой культурой в дозе - 5×10^9 м.к. и 10^{10} м.к. Результаты опыта приведены в таблице 2. Подопытные животные в основном погибали на 8-12 сутки после заражения с явными признаками эшерихиоза.

Во всех опытах проводилось бактериологическое исследование патматериалов от павших подопытных животных (белые мыши и морские свинки). Постоянно выделялись заражающие культуры.

Для определения вирулентности культур нами были взяты культуры E.coli, выделенных от павших телят и ягнят.

Для дальнейшего исследования были взяты следующие культуры кишечной палочки: E.coli 25 (K99), E.coli 45 (K88), E.coli 65 (F 41).

Культуральные свойства штаммов Escherichia coli 25, Escherichia coli 45, Escherichia coli 65 изучались на искусственных питательных средах (BCA, Эндо, Плоскирева).

Вирулентность E.coli 25, E.coli 45, E.coli 65 исследовали на белых мышах (весом 14-16 г) и морских свинках (массой 300-350 г) с учетом их выживаемости.

Таблица 2 - Вирулентность выделенных культур эшерихий на белых мышах.

№	Наименование культур	Адгезивный антиген	Кол-во животных	Доза введения (КОЕ)	Метод введения	Результат		
						Пало	Выжило	% выживаемости
1	E.coli 25	K-88	20	10^6	В/б	-	20	100
2			20	10^7	-//-	5	15	75
3			20	10^8	-//-	11	9	45
4			20	10^9	-//-	16	4	20
5	E.coli 45	K-99	20	10^6	В/б	3	17	85
6			20	10^7	-//-	16	4	20
7			20	10^8	-//-	20	—	—
8			20	10^9	-//-	20	—	—
9	E.coli 65	F-41	20	10^6	В/б	4	16	80
10			20	10^7	-//-	15	5	25
11			20	10^8	-//-	20	—	—
12			20	10^9	-//-	20	—	—

Примечание. Срок наблюдения 15 суток

Исследования показали, что гибель морских свинок, зараженных внутривентриально штаммами E.coli 25, E.coli 45, E.coli 65 в дозах 10^9 ,

2×10^9 , 3×10^9 и 4×10^9 КОЕ, наступала в течение 5-10 суток после заражения.

Во всех опытах проводилось бактериологическое исследование патматериалов (печень, селезенка, лимфатические узлы) от павших животных (белые мыши и морские свинки). Постоянно выделялись заражающие культуры.

Таким образом, установлено, что исследуемые штаммы эшерихий продуцировали гемотоксины, обладали адгезивными антигенами. Экспериментальные опыты на лабораторных животных свидетельствуют, что исследуемые штаммы эшерихий могут быть причиной заболеваний и гибели новорожденных телят и ягнят.

Из имеющихся в нашем распоряжении 3 штаммов возбудителей эшерихиоза мы отобрали по итогам изучения морфологических, биохимических, антигенных и вирулентных свойств два штамма *E.coli* 45 (K 88) и *E.coli* 65 (F41), которые в дальнейшем были использованы для гипериммунизации.

При идентификации 118 культур, выделенных от телят и ягнят установлено, что к *S.dublin* относятся - 103 культуры, *S.typhimurium* – 15 культур. Следует отметить, что из 103 культур *S.dublin*, 85 выделены от больных и павших телят и 18 культур *S.dublin* от ягнят. От больных и павших телят – выделено 10 культур *S.typhimurium* и 5 от ягнят.

Идентификацию проводили монорецепторными сыворотками.

Для определения вирулентности культур нами были взяты 10 культур *S.dublin*, выделенных от павших телят и 5 культур *S.dublin*, выделенных от ягнят, а также 10 культур *S. typhimurium* от павших телят и 5-от ягнят.

Патогенность выделенных культур проверяли на белых мышах в 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 и 10^9 КОЕ. Результаты опыта свидетельствуют, что подопытные животные погибали полностью от 10^4 КОЕ и выше.

Для дальнейшего исследования были подвергнуты следующие культуры: *Salmonella dublin* (*S.dublin* 7, *S.dublin* 15) и *Salmonella typhimurium* (*S.typhimurium* 21, *S. typhimurium* 49).

Вирулентность штаммов *S.dublin* 7, *S.dublin* 15, *S.typhimurium* 21, *S. typhimurium* 49 была изучена на белых мышах и морских свинках.

Белые мыши заражались внутрибрюшинно штаммами сальмонелл в дозах - 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 КОЕ.

Нами установлено, что морские свинки, зараженные внутрибрюшинно штаммами *S.dublin* 7, *S.dublin* 15, *S.typhimurium* 21, *S. typhimurium* 49 в дозах 10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 КОЕ, погибают в основном от доз 3×10^9 и 4×10^9 КОЕ.

Во всех опытах проводилось бактериологическое исследование патматериалов от павших животных (белые мыши, морские свинки). Постоянно выделялись заражающие культуры.

В результате изучения биологических свойств *S.dublin* 7, *S.dublin* 15, *S.typhimurium* 21, *S. typhimurium* 49 пришли к заключению, что все исследуемые культуры сальмонелл обладают типичными для этих видов морфологическими, культурально - биохимическими и антигенными свойствами и вирулентностью.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об этиологической роли изученных сальмонелл в заболевании телят и ягнят. Во всех случаях, при бактериологическом исследовании материала от павших лабораторных животных, телят и ягнят выделялись патогенные культуры сальмонелл.

Исследованию были подвергнуты 2 штамма *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae* 38, *K.pneumoniae* 37), выделенных от павших телят из паренхиматозных органов (легкие, печень, лимфоузлы) и костного мозга.

Биологические свойства исследуемых клебсиелл изучались по морфологическим, культуральным, биохимическим и вирулентным свойствам.

Патогенность вирулентных культур клебсиелл проверялась на телятах и ягнятах месячного возраста. Для заражения использовали штаммы *K.pneumoniae* 38 и *K.pneumoniae* 37, обладающие наиболее вирулентными свойствами.

При идентификации 8 культур, выделенных от телят и ягнят установлено, что они относятся к *K. pneumoniae*. Следует отметить, что из 8 культур *K. pneumoniae*, 6 - выделены от больных и павших телят и 2 культуры *K. pneumoniae* - от ягнят.

Для определения вирулентности культур нами были взяты 6 культур *K. pneumoniae*, выделенных от павших телят и 2 культуры *K. pneumoniae*, выделенных от ягнят.

Патогенность выделенных культур проверяли на белых мышах в 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 и 10^9 КОЕ. Результаты опыта свидетельствуют, что подопытные животные погибали полностью от 10^4 КОЕ и выше.

В дальнейшем для отбора производственных штаммов проводили исследования с 3 культурами *K. pneumoniae* (*K. pneumoniae* 48 *K. pneumoniae* 38 и *K. pneumoniae* 37), вызывающие гибель мышей в дозе 10^4 КОЕ.

Учитывая высокую патогенность штамма *K. pneumoniae* 37 для лабораторных животных и типоспецифичность, данный штамм нами был использован для изготовления гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза телят и ягнят.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об этиологической роли изученных клебсиелл в заболевании телят и ягнят. Во всех случаях, при бактериологическом исследовании материала от павших лабораторных животных, телят и ягнят выделялись патогенные культуры клебсиелл.

Определялась чувствительность эшерихий, сальмонелл и клебсиелл к антибиотикам методом бумажных стандартных дисков согласно инструкции. При изучении чувствительности к антибиотикам эшерихии оказались наиболее чувствительны к эритромицину, олеандомицину, левомицитину, сальмонеллы - к неомицину, эритромицину, левомицитину, мономицину, олеандомицину, новобиомицину, стрептомицину, тетрациклину, клебсиеллы - к эритромицину, бензилпенициллину, олеандомицину, левомицитину, ампициллину.

3.2 Технология изготовления гипериммунных сывороток

При оценке различных схем гипериммунизации животных-продуцентов поливалентным антигеном из штаммов эшерихий, сальмонелл и клебсиелл путем сопоставления результатов, полученных при изучении динамики накопления специфических антител, белкового состава, и иммуноглобулинов в сыворотке крови у гипериммунизированных животных, экспериментальных опытов на лабораторных животных по изучению превентивных свойств сыворотки, установлено, что наиболее высокие показатели отмечены у животных, привитых поливалентным антигеном 7 - кратно.

Таблица 3 - Вторая схема гипериммунизации быков

№ введения	Доза антигена (мл)	Интервал между введениями (сутки)	Метод введения антигена
1	2	4	подкожно
2	3	4	внутримышечно
3	5	4	подкожно
4	8	4	внутримышечно
5	10	5	подкожно
6	12	5	подкожно
7	14	5	внутримышечно
На 29 сутки взятие крови			

Именно эту схему гипериммунизации животных-продуцентов мы взяли за основу при изготовлении гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза телят и ягнят.

Предложенный способ позволяет получить гипериммунную сыворотку, эффективную для лечения и профилактики эшерихиоза,

сальмонеллеза и клебсиеллеза телят и ягнят, упростить технологию производства и снизить трудозатраты при ее получении.

Способ получения гипериммунной поливалентной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза крупного рогатого скота предусматривает введение волам-продуцентам поливалентного антигена и взятие крови.

В качестве антигена использовали взвеси инактивированных культур *Escherichia coli* 45, *Escherichia coli* 65, *Salmonella dublin* 15, *Salmonella typhimurium* 49 и *Klebsiella pneumoniae* 37.

Активность поливалентной сыворотки на эшерихиозные, сальмонеллезные и клебсиеллезные свойства проверяли на морских свинках. Сыворотку вводили подкожно в дозе 1 мл (15 морских свинок). Через 24 часа этим свинкам и одновременно 9 контрольным вводили смертельные дозы вирулентных культур *E.coli* (5-опытные и 3-контрольные свинки), *S.dublin* (соответственно -5 и 3), *K.pneumoniae* (5 и 3). Сыворотка считалась активной, если все 5 подопытные свинки или 3 из них оставались живыми, а контрольные морские свинки погибали в течение 10 суток.

3.3 Получение гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза из крови волов-продуцентов

В период развития сывороточного дела выявлено много факторов, положительно влияющих на получение высокоактивных лечебно-профилактических сывороток. Среди них основное значение имеют индивидуальные особенности животных, используемых в сывороточном производстве, и создание у них грунд-иммунитета с целью обеспечения предварительной иммунологической перестройки организма, методы гипериммунизации животных и применяемые при этом антигены и неспецифические раздражители, а также содержание и кормление животных в период эксплуатации.

В комплексе специфической иммунизации волов-продуцентов можно выделить три основных процесса, состоящих из предварительного грундирования животных, подготовительных циклов гипериммунизации и последующих производственных циклов гипериммунизации.

Предварительное грундирование волов обеспечивает повышение титров специфических антител при последующей гипериммунизации тем же антигеном в несколько раз и создает условие получения сывороток в более короткие сроки. Решающее значение при отборе волов для производства иммунных сывороток имеют результаты первого цикла иммунизации.

Вторая схема гипериммунизации проводилась по укороченному сроку введения полиантигена, приготовленного из производственных

штаммов сальмонелл, эшерихий и клебсиелл. Нами использован интенсивный метод эксплуатации животных-продуцентов.

По результатам проведенных исследований было установлено, что агглютинирующая активность сыворотки крови волов – продуцентов возрастает после первых инъекций антигена и достигает максимального уровня после седьмой инъекции антигена; титры специфических антител сыворотки крови волов – продуцентов коррелируют в высокой степени с превентивными свойствами сыворотки; гипериммунная сыворотка крови, полученная от волов – продуцентов, привитых поливалентным бактериальным антигеном, была более активной.

3.4 Лечебно-профилактическая эффективность гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза

Положительные результаты экспериментов по проверке гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза на безвредность и активность в опытах на лабораторных животных послужили основанием к апробации гипериммунной сыворотки, приготовленной с использованием в качестве антигенов производственных штаммов эшерихий, сальмонелл и клебсиелл в хозяйствах, неблагополучных по эшерихиозу, сальмонеллезу и клебсиеллезу крупного и мелкого рогатого скота.

Для изучения лечебно-профилактических свойств гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза крупного рогатого скота в крестьянских хозяйствах Западно-Казахстанской области были отобраны группа новорожденных телят. Животных разделили на 4 группы.

В первую и вторую группы были подобраны естественно заболевшие телята 3-10 дневного возраста. Всего в опыте было задействовано 110 новорожденных больных телят.

В третью и четвертую группы вошли новорожденные телята 2-5 дневного возраста, на которых изучались профилактические свойства гипериммунной поливалентной сыворотки.

Больным телятам первой группы с лечебной целью поливалентную сыворотку вводили подкожно, однократно в дозе 20 мл. Телятам второй группы сыворотку вводили двукратно в дозах 20 и 10 мл с интервалом 24 часа.

Нами проведена широкая апробация гипериммунной сыворотки в хозяйствах Западно-Казахстанской области, неблагополучных по эшерихиозу, сальмонеллезу и клебсиеллезу телят и ягнят.

Экономическая эффективность препарата складывается из сокращения сроков гипериммунизации животных, сроков эксплуатации продуцентов, снижения затрат на изготовление антигенов, из предложенной нами схемы гипериммунизации животных, а также

лечебных и профилактических свойств гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза. Экономический эффект от применения гипериммунной сыворотки составляет 15 тенге на один затраченный тенге.

Положительные результаты экспериментов по проверке поливалентной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза телят и ягнят на безвредность и активность в опытах на лабораторных животных, телятах и ягнятах послужили основанием к испытанию гипериммунной сыворотки, приготовленных с использованием в качестве антигенов производственных штаммов эшерихий, сальмонелл и клебсиелл в хозяйствах, неблагополучных по эшерихиозу, сальмонеллезу и клебсиеллезу телят и ягнят.

В производственных условиях мы изучали лечебно-профилактические свойства гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза телят и ягнят в хозяйствах Западно-Казахстанской области. Больным телятам 10-дневного возраста с лечебной целью сыворотку вводили подкожно, однократно (20 голов) в дозе 15 мл, и двукратно, в дозах 10 и 15 мл с интервалом 24 часа.

Клинические наблюдения, эпизоотологические данные и отзывы специалистов хозяйств, где проводилось испытание гипериммунной сыворотки, свидетельствуют об эффективности препарата, позволившего значительно снизить заболеваемость и гибель телят и ягнят от эшерихиозных, сальмонеллезных и клебсиеллезных инфекций в сравнении с предыдущими годами, и указывает на возможность широкого применения сыворотки как с профилактической, так и с лечебной целью.

ВЫВОДЫ

1. Изучена степень распространения заболеваний телят и ягнят сальмонеллезной, эшерихиозной и клебсиеллезной этиологии в 10 хозяйствах Западно – Казахстанской области (КХ «Сабит», КХ «Кадеш» Акжайыкского района, КХ «Осимтал», «Сапенов», с/о «Амангельды», «Логашкино» Таскалинского района, с/о «Лубенский», «Ащесайский» Чингирлауского района, КХ «Атансай» Сырымского района, с/о «Березовский» Бурлинского района). Причиной заболевания животных в этих хозяйствах явились сальмонеллезная, эшерихиозная и клебсиеллезная инфекции, протекающие в моно - и смешанной форме.
2. Разработаны рациональные методы получения высокоактивной поливалентной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

3. Изучена динамика формирования гуморального иммунитета при иммунизации животных антигенами приготовленными из выделенных культур сальмонелл, эшерихий и клебсиелл.
4. Изучены лечебные и профилактические свойства гипериммунной сыворотки на телятах и ягнятах.
5. Применение поливалентной сыворотки, изготовленной по разработанной нами схеме гипериммунизации животных при эшерихиозе сальмонеллёзе и клебсиеллезе телят и ягнят обеспечивает сохранность и увеличение поголовья молодняка мелкого и крупного рогатого скота, снижает заболеваемость животных, сокращает сроки гипериммунизации, снижает затраты на производство единицы продукции. Экономический эффект от применения гипериммунной сыворотки составляет 15 тенге на один затраченный тенге.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложена схема гипериммунизации животных-продуцентов, методика получения высокоактивной поливалентной сыворотки, с использованием в качестве антигена производственных штаммов сальмонелл, эшерихий и клебсиелл, и её применение для профилактики и лечения сальмонеллёза, эшерихиоза и клебсиеллеза телят и ягнят.
2. Предложена для внедрения в производство гипериммунная сыворотка против сальмонеллёза, эшерихиоза и клебсиеллеза телят и ягнят.
3. Результаты исследований внедрены в животноводческие хозяйства Западно-Казахстанской области, разработаны рекомендации «Желудочно-кишечные заболевания телят и ягнят и меры борьбы».
4. Материалы диссертации используются в учебном процессе для обучения студентов по специальности «Ветеринарная медицина» и «Ветеринарная санитария» ЗКАТУ имени Жангир хана, ЗКИТУ, инженерно – технологического колледжа и на занятиях курса «Повышение квалификации ветеринарных врачей», а также при выполнении курсовых и дипломных работ.
5. Материалы диссертации используются в научно–исследовательской работе по профилактике желудочно–кишечных заболеваний молодняка в Западно-Казахстанской научно–исследовательской ветеринарной станции филиала ТОО «КазНИВИ».

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Нургалиева С.М. Особенности технологии изготовления поливалентной гипериммунной сыворотки и изучение её активности [Текст]/ С. М. Нургалиева, У.Б. Таубаев // Материалы международной научно-практич. конф.: «Совр. состояние и дальн. направления плем.работы в животноводстве Западного Казахстана». - Уральск, 1999. - С. 183-184.
2. Нургалиева С.М. Профилактика острых желудочно–кишечных заболеваний телят [Текст]/Г.Г Есенгалиев, С.М Нургалиева., У.Б. Таубаев //Сборник докладов конференции проф.преп.состава ЗКАУ по итогам научно – иссл. работ за 1999 год. Уральск, 2000. - С.266-268.
3. Нұрғалиева С.М. Бұзауларға протей, клебсиелла, эшерихия, сальмонелла және стрептококк антигендерін ендіргенде антидене түзілу динамикасы [Текст]/ С.М. Нұрғалиева //БҚМУ – нің хабаршысы. Ауыл-шаруашылық ғылымдар сериясы. –Уральск, 2001. - №2. –С. 60-61.
4. Нұрғалиева С.М. Мүйізді ірі қараның асқазан-ауруларына қарсы ассоциацияланған вакцина [Текст]/Ф. Ф. Есенғалиев, С. М. Нұрғалиева, Ө. Б. Таубаев//Материалы межд. науч-практ.конф, посв. 70-летию ЗКГУ. Уральск, 2002. - С.319-320.
5. Баянтасова С.М. Бұзаулардың асқазан-ішек індеттеріне қарсы поливалентті гипериммунды сарысудың белсенділігін зерттеу [Текст]/ С.М Баянтасова// «Қоршаған ортаны сақтау-қазіргі күннің басты мәселесі» халықаралық ғылыми-практикалық конференцияның материалдары. Орал, 2005.- Б.306-307.
6. Баянтасова С.М. Лечебно – профилактическая эффективность гипериммунной сыворотки против эшерихиоза, сальмонеллеза и клебсиеллеза [Текст]/ С. М. Баянтасова, К.Б. Бияшев, Ж.С. Киркимбаева//Журнал «Исследования, результаты». Алматы, 2008. - С. 13-14.
7. Баянтасова С.М. Чувствительность к антибиотикам штаммов эшерихий, сальмонелл и клебсиелл[Текст]/С.М. Баянтасова, К.Б. Бияшев, Ж.С. Киркимбаева//Журнал «Исследования, результаты». Алматы, 2008.- С.15-16.
8. Баянтасова С. М. Желудочно-кишечные заболевания телят и ягнят и меры борьбы с ними/ С. М. Баянтасова //Рекомендация – Уральск , 2012. – 21 с.
9. Баянтасова С.М. Распространенность желудочно–кишечных заболеваний среди телят и ягнят [Текст]/Интернет – журнал ВАК Кыргызской Республики. 2012. -№ 1.

Баянтасова Светлана Максutowнанын 06.02.02-адистиги – ветеринардык микробиология, вирусология, эпизоотология, монокотоксикология жана иммунология менен микология адистиги боюнча «Музоолор менен козулардын ашказан-ичеги ооруларына каршы гипериммундук сары суунун эффективдүүлүгү» темасына жазылган диссертациялык ишине

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: Эшерихиоз, сальмонеллез, клебсиеллез, музоолор, козулар, сары суу.

Изилдөөнүн объектиси: музоолор, козулар.

Иштин максаты: Жаныбарлардын сальмонеллез, эшерихиоз, клебсиеллезго каршы жаныбарлардын продуценттеринен жогорку активдүүлүктөгү сары сууну алуу максатында гипериммунизация чиймелерин өнүктүрүү жана препараттын музоолордун, козулардын организминде ченем жана патология кезиндеги тийгизген таасирин изилдөө.

Изилдөөнүн ыкмалары: бактериологиялык, серологиялык, гипериммунизациялык

Алынган натыйжалар жана алардын жаңычылыгы: Жүргүзүлгөн иштин натыйжасында жаныбарлар-продуценттердин гипериммунизациясы үчүн антиген катарында сальмонеллез, эшерихиоз, клебсиелл маданияттарын тандоо критерийлерин иштеп чыгышты. Жаныбарлардын гипериммунизациясын белгилүү бир өлчөмдө кыскартууга мүмкүндүк берген жаныбарларды гипериммунизациялоонун рационалдуу чиймеси иштелип чыкты жана өгүздөрдү иммунизациялоо чиймесинде мурда колдонулуп жүргөн чиймеге салыштырмалуу антигендин чыгымын 10-20 эсе кыскартуу жолун карашты, кыска мөөнөттүн ичинде даярдалган мезгилге поливаленттик сары суу проценттери катарында донорлорду даярдоо мүмкүндүгү аныкталды. Биринчи жолу жаныбарлардан сальмонеллез, эшерихиоз жана клебсиеллазга каршы жогорку активдүү сары суу алуу максатында жаныбарлар-продуценттердин гипериммунизациясы үчүн антиген катарында сальмонелл, клебсиелдин өндүрүштүк штаммы жана эшехириянын адгезинпозитивдик штаммы колдонулду.

Колдонуу жагы: Жангир хан атындагы Батыш-Казакстандын агрардык техникалык университетинин Ветеринардык медицина жана биотехнологиялык факультетинин дисциплинардык окуу процессине колдонуу: «Эпизоотология и инфекционные болезни» жана «Эпизоотология с основами ветеринарной санитарии», Казакстан областынын Батыш райондорунун айылдык ветеринардык мекемелерге.

РЕЗЮМЕ

диссертационной работы Баянтасовой Светланы Максатовны на тему
**«Эффективность гипериммунной сыворотки против желудочно -
кишечных заболеваний телят и ягнят» на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 –
ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология**

Ключевые слова: Эшерихиоз, сальмонеллез, клебсиеллез, телята, ягнята, сыворотка.

Объект исследования: телята, ягнята.

Цель работы: усовершенствование схем гипериммунизации с целью получения от животных продуцентов высокоактивной поливалентной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза животных и изучение влияния препарата на организм телят, ягнят в норме и патологии.

Методы исследования: бактериологические, серологические, гипериммунизация

Полученные результаты и их новизна: В результате проведенной работы разработаны критерии отбора культур сальмонелл, эшерихии и клебсиелл в качестве антигена для гипериммунизации животных-продуцентов. Разработана рациональная схема гипериммунизации животных, позволяющая значительно сократить сроки иммунизации животных и в 10-20 раз уменьшить расход антигена по сравнению с применяемой схемой иммунизации волов; определены возможности в короткий срок подготовить доноров в подготовительном периоде, как продуцентов поливалентной сыворотки. Впервые для иммунизации животных-продуцентов в качестве антигенов использованы производственные штаммы сальмонелл, клебсиелл и адгезинпозитивные штаммы эшерихий с целью получения от животных высокоактивной сыворотки против сальмонеллеза, эшерихиоза и клебсиеллеза.

Область применения: используются в учебном процессе факультета Ветеринарной медицины и биотехнологии Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана по дисциплинам «Эпизоотология и инфекционные болезни» и «Эпизоотология с основами ветеринарной санитарии», а также в хозяйствах Западно-Казахстанской области.

RESUME

Bayantasova Svetlana Maksutovna

dissertation on a theme «Efficiency of hyperimmune serum against the stomach – intestinal diseases of calb and lambs» on competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 06.02.02 - veterinary microbiology, virology, epizootology, micology with micotoxicology and immunology

Keywords: esherihioziz, salmonellosis, klebsielloziz, calb, lambs, serum.

Object of research: calbs, lambs.

The work purpose: the scheme improvement of hyperimmunization with the purpose of receipt from animal producer of multiactive, multipartial serum against salmonellosis, esherihioziz and klebsielloziz of animals and influence of prepazation study the organism of calbs, lambs in a norm and pathology.

Research methods: bacteriological, serological, hyperimmunization.

The received results and their novelty: as a result of conducted work the criteria selection of salmonellosis, esherihioziz and klebsielloziz cultures as an antigen for hyperimmunization of animal producers are worked out. The rational scheme of hyperimmunization animals are developed, allowing considerably to reduce the terms of animals immunization in 10-20 times to decrease antigen expense as compared to the applied bullocks immunization scheme is worked out; to prepare donors in setup time and the possibilities in short period was defined as producer of multipartial serum. At first for producer of animal immunization as quality of antigen productive salmonellas stocks is used, klebsielloziz and adhesion positive stocks of esherihioziz with the purpose of receipt from animal producer of multiactive serum against salmonellosis, klebsielloziz and esherihioziz.

Scope: the educational process of «Veterinary medicine and biotechnology» faculty in WKATU by Zhangir khan on disciplines «Epizootology and inflectional diseses» and «Epizootology with bases of veterinary sanitation» and also the economy of West Kazakhstan area.