

# Сравнительная характеристика инактивированных вакцин против сальмонеллеза птиц отечественного и импортного производства

*Смирнов Д.Д. (ППЗ «Смена»)*

*Рождественская Т.Н. (НПП «АВИВАК»)*

*Кононенко Е.В. (НПП «АВИВАК»)*

## Введение

Сальмонеллез птиц – инфекционное заболевание, протекающее в острой или хронической форме, может быть вызвано одним или несколькими представителями рода *Salmonella*. В последние годы значительно расширился спектр серовариантов сальмонелл, циркулирующих в организме птиц, наряду с увеличением процента выделения *Salmonella enteritidis* все чаще регистрируются положительные находки по *Salmonella gallinarum-pullorum* и *S. infantis*. По данным Кафтыревой Л.А. (Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера) из мяса, яйца и смывов из них выделяется до 7 сероваров сальмонелл. Доминирующим является *Salmonella enteritidis*. Доля этого возбудителя достигает 81,3% из мяса кур и 88,3% из яиц.

Проблемы с проявлением сальмонеллезной инфекции связаны с двумя причинами: птица может переболеть в легкой форме без видимых клинических признаков, может являться носителем сальмонелл длительное время, т.е. быть резервуаром возбудителя. Кроме кур, резервуаром инфекции служит и остальная домашняя птица, особенно водоплавающая (гуси, утки), голуби, а также грызуны (мыши и крысы), насекомые (тараканы), домашние животные и человек (Аронов В. М., 1999). Все это создает стойкое эпизоотическое неблагополучие в окружающей среде, связанное с высоким риском контаминации сальмонеллами промышленной птицы.

Поэтому сальмонеллез птиц независимо от сероварианта возбудителя, вызвавшего его, причиняет промышленному птицеводству и обществу значительный социально-экономический ущерб, который складывается из снижения яйценоскости кур-несушек, количества оплодотворенных яиц, повышенной летальности эмбрионов, потери привесов молодняка, значительных затрат на проведение ветеринарно-санитарных, диагностических и лечебно-профилактических мероприятий (Борисенкова А.Н. и соавт., 2008). Помимо этого штаммы *S. enteritidis* и *S. typhimurium* могут вызывать пищевые токсикоинфекции у людей, часто заканчивающиеся летальным исходом, особенно у детей и лиц престарелого возраста (Кафтырева Л.А.).

При промышленном выращивании птицы антибактериальная терапия против сальмонеллеза проводится в стадах, где выявляются положительно реагирующие на сальмонеллез особи, но при этом не регистрируются клинические признаки заболевания.

Однако, по мнению многих исследователей и комитета экспертов ВОЗ по сальмонеллезу EFSA (Европейское агентство по пищевой безопасности) проблема не может быть решена только применением антибиотиков и химиопрепаратов. Их постоянное применение приводит к возникновению полирезистентных расс микроорганизмов (Kolasa A. и др. 2007). Инфицированные

продукты птицеводства становятся источником генов множественной лекарственной устойчивости для возбудителей опасных для человека. По этой причине в США и многих странах Европы применение антибиотиков в птицеводстве строго регламентируется. В комплексе профилактических мероприятий активно рекомендуется использовать методы специфической профилактики.

В отечественном птицеводстве для профилактики сальмонелла-энтеритидис инфекции птиц в последние годы все чаще используются инактивированная вакцина и сальмофаги. На примере хозяйства мясного направления, где с положительным эффектом в течение длительного времени применяется инактивированная вакцина против сальмонеллеза птиц зарубежного производства были проведены сравнительные испытания эффективности импортной и отечественной вакцины «АВИВАК-Сальмовак».

### **Материалы и методы**

В промышленных условиях в двух птичниках было иммунизировано 14 000 гол кур-несушек в возрасте 90 дн., один птичник - импортной вакциной, второй - отечественной «АВИВАК-Сальмовак». За период содержания птица обеих групп была клинически здорова и при проведении бактериологических исследований культуры сальмонелла-энтеритидис не выделяли. Из инкубационного яйца получили клинически здоровых цыплят, из которых было сформировано 2 группы 2, 5, 10, 14, 17 и 20-суточного возраста, по 72 особи в каждой. Цыплята методом случайной выборки были разделены на шесть подгрупп по 12 особей в каждой - подгруппы № 1-6 и 7-12. Цыплят каждой подгруппы содержали в отдельной клетке. До заражения у 2 убитых цыплят каждой подгруппы отбирали пробы печени, селезенки и кишечника, которые исследовали на наличие сальмонелл.

Для заражения опытных (иммунных) и контрольных (не иммунных) бройлеров использовали штамм *S. enteritidis* 92 Rif/R, устойчивый к рифампицину (МПК >200 мкг/мл), вирулентный для белых мышей (LD 50=500 КОЕ) и способный колонизировать кишечник, печень и селезенку цыплят-бройлеров в любом возрасте. Штамм получен и поддерживался в музее ФГУН ГНЦ ПМБ.

Предварительно готовили суспензию штамма, используя для этого стандарт мутности (10 ед., производство ГНКИ им. Тарасевича, г. Москва). Окончательную концентрацию живых клеток (КОЕ), вводимых птицам, определяли путем высева взвеси сальмонелл на плотные среды с последующим подсчетом выросших колоний штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R.

Цыплят заражали перорально, вводя каждой особи заранее определенные дозы штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R: для 1-2-сточных - 1-2 млрд. КОЕ/гол и 5-30-суточных – от 3 до 5 млрд. КОЕ/гол.

В качестве контроля взяли 30 цыплят аналогичного возраста из хозяйства, где не проводится иммунизация родительских стад против сальмонеллеза. Бройлеров разделили на 6 подгрупп по 5 гол в каждой, и в период всего эксперимента содержали в отдельном изоляторе.

За цыплятами из опытных и контрольных групп, зараженных штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R, наблюдали в течение 14 сут. У павших цыплят, а также оставшихся в живых и убитых по истечении

срока наблюдения, исследовали печень, селезенку и подвздошную кишку на наличие штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R.

Для изучения антиинвазивных свойств вакцин из печени павших или убитых птиц вырезали стерильными ножницами кусочки массой около 1 г, селезенку отбирали полностью, а от подвздошной кишки отрезали кусок длиной 1,5-2,0 см (массой около 1 гр) и вскрывали его по длине. Навески печени, селезенки и кишечника измельчали ножницами, помещали в стерильные пробирки и взвешивали. В пробирки с образцами вносили 4,5 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия и гомогенизировали содержимое пипеткой. Приготовленную таким образом суспензию органов титровали методом десятикратных разведений до разведения –  $10^{-5}$ . Суспензию из разведений  $10^0$ ,  $10^{-3}$  и  $10^{-5}$  высевали в объеме 0,1 мл на чашки с селективной питательной средой - агар Эндо с добавлением рифампицина в концентрации 100 мкг/мл для выявления штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R.

Посевы выращивали в течение 24 и 48 ч при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  в условиях термостата. После 24 ч инкубирования проводили предварительный учет результатов, а через 48 ч – окончательный, подсчитывая количество выросших колоний штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R. Затем определяли обсемененность внутренних органов цыплят в КОЕ на 1 г навески органа (КОЕ/г).

В том случае, когда в посевах на среде Эндо с рифампицином не регистрировали колоний, характерных для сальмонелл, образцы засеивали в неселективные и селективные среды обогащения (см. ниже).

При наличии хотя бы одной характерной для *S. enteritidis* 92 Rif/R колонии, проводили дальнейшее их изучение. Для подтверждения принадлежности выделенных культур к роду *Salmonella* и сероварианту *Enteritidis* использовали биохимическую тест-систему для идентификации энтеробактерий ENTEROtest 24 (Lachema, Чехия) и специфические агглютинирующие сальмонеллезные сыворотки (Санкт-Петербургский институт вакцин и сывороток).

Характерный для сальмонелл рост на среде Эндо, устойчивость культуры к рифампицину, биохимические и серологические свойства позволяли окончательно судить о принадлежности выделенной культуры к штамму *S. enteritidis* 92 Rif/R.

Средний титр бактерий ( $T_{cp}$ ), его относительную ошибку ( $\delta$ ) в органах цыплят, зараженных штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R, вычисляли общепринятыми методами (Лакин Г.Ф., 1990).

Эффективность примененных вакцинных препаратов оценивали по относительному титру, который вычисляли по формуле, где:

$T_{cp}$  – средний титр *S. enteritidis* 92 Rif/R в инфицированных органах цыплят опытных групп;

$T_{cp0}$  – соответствующий средний титр в контроле.

Все вычисления проводили с помощью программы Microsoft Excel 2007.

## Результаты исследований и обсуждение

Проведенные исследования проб печени, селезенки и кишечника от цыплят опытных и контрольной групп до заражения их штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R не выявили наличия бактерий рода *Salmonella* spp.

Результаты определения антиинвазивных свойств вакцин представлены на рис. 1-3.

Установлено, что у цыплят, полученных от стада привитого вакциной зарубежного производства после заражения патогенным штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R в возрасте 2 и 6 сут, печень и селезенка не были инфицированы бактериями рода *Salmonella* spp., и только у одного цыпленка из 10 был инфицирован кишечник. При заражении 10 и 14-суточных цыплят были инфицированы все органы у 20-40% особей, а в возрасте 17 и 20 сут этот показатель повысился до 70-100%.

В группе цыплят, родители которых были иммунизированы инактивированной вакциной «АВИВАК-Сальмовак», при заражении в возрасте 2 и 6 сут были инфицированы бактериями рода *Salmonella* spp. печень по 1 пробе и кишечник в 2 и 3 пробах из 10. В пробах селезенки, в эти сроки исследования, бактерии не выделены. На более поздних сроках заражения различий в инфицировании внутренних органов обеих групп цыплят не обнаружено.

У контрольных цыплят в первый срок заражения (возраст 2 сут) была выявлена 100% инфицированность бактериями рода *Salmonella* spp. печени и кишечника, а также селезенки у 90% особей, однако в более позднем возрасте у зараженных цыплят регистрировали 100% инфицированность всех исследуемых органов.

В табл. 1 представлены результаты определения среднего титра бактерий (КОЕ) и его средней ошибки (%) выделенных из внутренних органах цыплят, полученных от вакцинированных родительских стад, при заражении в разные возрастные периоды (2, 6, 10, 14, 17 и 20 сут) патогенным штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R.

Показано, что самый высокий инфекционный титр штамма *S. enteritidis* 92 Rif/R был установлен в печени при заражении цыплят контрольной группы в возрасте 6 сут -  $5,8 \times 10^6$ , титр возбудителя в селезенке и кишечнике, составил  $2,8 \times 10^6$  и  $1,5 \times 10^6$  КОЕ/г, соответственно. По сравнению с этими данными у цыплят, родители которых были привиты вакциной «АВИВАК-Сальмовак», титр бактерий в печени при заражении в 2-суточном возрасте был в 100 раз ниже, а к концу эксперимента он снизился в 50 раз.

Таблица 1

Средний титр бактерий *S. enteritidis* 92 Rif/R ( $T_{cp}$ ) в органах зараженных опытных и контрольных цыплят

Вакцина	№	Средний титр бактерий, КОЕ/г	Возраст цыплят при заражении, сут					
			2	6	10	14	17	20
Импортная вакцина	1	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	0	0	3,3	6,6	8,4	6,9
		$\delta$ (%)	0	0	54,4	37,6	52,1	46,3
	2	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	0	0	3,7	8,5	10,9	11,3
		$\delta$ (%)	0	0	26,8	15,7	31,9	59,8
	3	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	0	0,4	2,0	17,2	12,0	4,2
		$\delta$ (%)	0	0	77,9	51,9	29,7	41,4
АВИВАК-Сальмовак	1	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	58,0	0,1	2,2	17,5	5,8	3,8
		$\delta$ (%)	0	0	23,0	101,4	41,7	70,7
	2	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	0	0	1,7	12,2	12,4	8,5
		$\delta$ (%)	0	0	16,6	32,9	58,0	54,4
	3	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	15,0	20,5	2,0	17,7	12,0	4,2
		$\delta$ (%)	0	95,7	73,8	79,1	31,5	55,6
Контроль	1	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	136,9	5810,0	35,7	33,9	22,2	17,0
		$\delta$ (%)	27,0	92,8	26,1	34,2	34,5	40,1
	2	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	361,4	2846,7	47,7	62,1	48,9	28,6
		$\delta$ (%)	30,0	86,5	47,4	41,7	42,0	23,3
	3	$T_{cp}$ ( $10^3$ )	97,5	1459,0	24,8	33,4	17,4	12,3
		$\delta$ (%)	33,6	88,0	39,3	41,1	31,7	25,8

Примечание: 1- пробы печени; 2- пробы селезенки; 3- пробы кишечника.

Для дополнительного сравнения эффективности примененных вакцинных препаратов против сальмонеллеза кур были определены отношения средних титров бактерий *S. enteritidis* 92 Rif/R в инфицированных органах (печень, селезенка и кишечник) цыплят, полученных от родительских стад привитых вакцинами «АВИВАК-Сальмовак» и зарубежного производства к контрольным образцам (табл. 2).

Степень инфицированности внутренних органов цыплят при разных сроках заражения

Орган	Вакцина	Возраст цыплят при заражении, сут					
		2	6	10	14	17	20
Печень	АВИВАК-Сальмовак	42,4	0	6,0	51,7	26,0	22,4
	импортная	0	0	9,1	19,4	37,8	40,2
Селезенка	АВИВАК-Сальмовак	0	0	3,6	19,7	25,3	29,6
	импортная	0	0	7,8	13,6	22,2	39,4
Кишечник	АВИВАК-Сальмовак	15,4	1,4	8,0	53,1	68,8	34,1
	импортная	0	0,03	9,2	31,4	45,0	56,0

Как видно из данных табл. 2, за исключением показателя инфицированности печени и кишечника у зараженных 2-суточных цыплят, полученных от родителей, привитых инактивированной вакциной «АВИВАК-Сальмовак», в другие сроки заражения во всех исследуемых органах достоверной разницы по сравнению с вакциной зарубежного производства не установлено.

### Выводы

1. В результате проведения сравнительных испытаний вакцин против сальмонелла-энтеритидис-инфекции птиц было показано, что отечественная вакцина «АВИВАК-Сальмовак» по антиинвазивным и протективным свойствам не уступала импортному аналогу и обеспечивала стойкое эпизоотическое благополучие по данной инфекции.
2. Вакцинация кур родительских стад зарубежной вакциной и вакциной «АВИВАК-Сальмовак» была эффективной и формировала напряженный иммунитет, который передавался цыплятам трансвариально и защищал их в раннем возрасте (до 6 сут) при заражении патогенным штаммом *S. enteritidis* 92 Rif/R.
3. С возрастом уровень защищенности цыплят, полученных от привитых родителей, достоверно снижался после заражения *S. enteritidis* 92 Rif/R при использовании обеих вакцин.