C. Alonso-Calleja // Intern. J. Food Microbiol. – 2003. – Vol.81. – P. 161-173. **14.** Kimura, A.C. Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic Salmonella enteric serotype Enteritidis infections in the United States: a case-control study in FoodNet sites [text]/ A.C. Kimura // Clin. Infect. Dis. – 2004. – Vol.38. – P.244-252. **15.** Messens, W. Eggshell penetration by Salmonella: a review [text]/ W. Messens, K. Grijspeerdt, L. Herman// World Poult. Sci. J. – 2005. – Vol.61, N1. – P.71-85. **16.** Results of a Salmonella Enteritidis vaccination field trial in broiler-breder flocks in the Netherlands [text]/ A. Feberwee [et al.]// Avian Dis. – 2000. – Vol.44. – P.249-255. **17.** Routes for Salmonella contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse [text]/ M. Hendrickx [et al.] // Epidemiol, and Infect. – 2002. – Vol.l29. – P.253-265.

THE STUDY OF IMMUNOGENIC AND PROTECTIVE CHARACTERISTIC OF EXPERIMANTAL SERIES OF INACTIVATED VACCINES AGAINST AVIAN SALMONELLOSIS

Obukhovskaya O.V., Stegniy B.T., Zavgorodniy A.I., Petrenchuk E.P., Glebova K.V., Krukova N.V., Vovk S.I.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Plys V.N., Belaya N.V., Kolbasina T.V.

Dnipropetrovsk Research Station of the NSC "IECVM", Dnipropetrovsk

In experiments on birds there were studied immunogenic and protective properties of two series of inactivated vaccines against Avian Salmonellosis (serovar Salmonella Enteritidis). There has been found that the inactivated vaccine based on the Salmonella bacterin at 2-fold intramuscular injection stimulates the formation of specific antibodies at the level of 8,30 ± 0,06 log2 and protects 95% of immunizated individuals from infection of Salmonella. We also show that a vaccine based on a mixture of fimbrial adhesins and toxoids of Salmonella Enteritidis at the application of a similar immunization initiated the formation of specific antibodies to the low level (7,85 ± 0,05 log2), protective properties of the vaccine is 90%.

УДК 619:616.98:579.843.96:636.6

ОТРИМАННЯ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ АНТИГЕНУ АНТИТІЛЬНОГО ЕРИТРОЦИТАРНОГО ЩОДО ДІАГНОСТИКИ ПАСТЕРЕЛЬОЗУ (ХОЛЕРИ) ПТИЦІ В РЕАКЦІЇ НЕПРЯМОЇ ГЕМАГЛЮТИНАЦІЇ

Плис В.М.

Дніпропетровська дослідна станція Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

Стегній Б.Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Пастерельоз (холера) птиці – інфекційна хвороба, яка вражає всі види сільськогосподарської птиці, диких перелітних та синантропних птахів і характеризується септицемією, геморагічним діатезом і високою смертністю. Збудником пастерельозу є *Pasteurella multocida* – нерухома, коротка, овальної форми, біполярна, грам негативна бактерія. Хвороба може перебігати в блискавичній, гострій, підгострій та хронічній формах [2, 3, 5].

Попередній діагноз на пастерельоз (холеру) ставиться комплексно, враховуючи анамнестичні та епізоотологічні дані, клінічні ознаки, патологоанатомічні зміни та результати бактеріологічних досліджень, а заключний – через 48 годин [2, 3, 4, 5].

Тому найбільш актуальною є робота по розробці експрес-методу діагностики пастерельозу (холери) птиці [1, 3, 6].

Метою нашої роботи було отримати гіперімунну сироватку крові птиці для виготовлення антигену антитільного еритроцитарного щодо прижиттєвої діагностики пастерельозу (холери) птиці в реакції непрямої гемаглютинації та визначити її специфічність та антигенну активність.

Матеріали і методи. Дослідження проводились в секторі імуноепізоотологічного моніторингу бактеріальних інфекцій птиці лабораторії епізоотології бактеріальних хвороб птиці та лабораторії епізоотології вірусних хвороб птиці Дніпропетровської дослідної станції Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини».

У дослідах щодо отримання гіперімунної сироватки крові від птиці використовували задепонований виробничий штам пастерел № 1931. Рівень специфічних антитіл у сироватці крові птиці визначали в реакції непрямої гемаглютинації (РНГА) з виготовленим антигеном антитільним еритроцитарним, розробленим спільно з Національним науковим центром «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» та Дніпропетровською дослідною станцією Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини».

Нами проведено дослід, у якому порівняли схеми отримання гіперімунної сироватки крові з застосуванням повного і неповного ад'юванту Фрейнда. Для проведення досліду було завезено 60 голів гусей річного віку, породи «Італійська» з господарства-постачальника, благополучного щодо пастерельозу (холери) та інших інфекційних хвороб птиці.

Птиця утримувалася в спеціалізованих віваріях, які відповідають ветеринарно-санітарним вимогам, годівля здійснювалася за раціонами відповідно до виду, віку, породи та періоду продуктивності.

Птахопоголів'я розділили на дві групи за принципом пар аналогів контрольна (n=10) і дослідна (n=50).

Птиці дослідної групи вводили внутрішньом'язево по 0,5 см^3 інактивованої бактеріальної маси культури *Pasteurella multocida*, змішаної у співвідношенні 1:1 з повним ад'ювантом Фрейнда. Через 28 діб повторно вводили внутрішньом'язево по 0,5 см^3 інактивованої бактеріальної маси культури *Pasteurella multocida*, у такому ж співвідношенні, але використовували неповний ад'ювант Фрейнда.

Птиці контрольної групи внутрішньом'язево вводили по 0,5 см^3 стерильного фізіологічного розчину. На сьому добу після повторного введення інактивованої бактеріальної маси культури *Pasteurella multocida* у птиці відбирали кров для досліджень приросту титрів специфічних антитіл до *Pasteurella multocida* в реакції непрямої гемаглютинації з антигеном антитільним еритроцитарним.

До імунізації і після (через 35 діб) відбирали проби крові від дослідної птиці, для отримання сироватки крові, яку досліджували в реакції непрямої гемаглютинації з пастерельозним антигеном антитільним еритроцитарним з метою визначення рівня титрів специфічних антитіл до пастерельозу (холери) птиці.

Результати досліджень. Визначення специфічності та антигенної активності щодо стандартного антигену в РНГА представлені в таблиці 1.

Представлені в таблиці 1 результати досліджень свідчать про те, що при застосуванні ад'юванту Фрейнда отримані гіперімунні сироватки крові мали високий рівень титрів специфічних антитіл до *Pasteurella multocida* та складали 1:256 тобто зросли на 4,1 $\log_2$

у порівнянні з контролем. Це дало змогу використати їх для приготування антигену антитільного еритроцитарного для діагностики пастерельозу (холери) птиці в реакції непрямої гемаглютинації.

Таблиця 1 – Приріст титрів специфічних антитіл у сироватці крові гусей після введення штаму № 1931 бактерії *Pasteurella multocida* при застосуванні ад'юванту Фрейнда з антигеном антитільним еритроцитарним в реакції непрямої гемаглютинації (РНГА)

Групи	Середній титр антитіл (log_2) у сироватці крові, відібраної:	
	До імунізації	На 35 добу
Дослідна	3,2 ± 0,14	7,3 ± 0,11
Контрольна	3,2 ± 0,14	3,3 ± 0,13

Також було проведено перевірку активності та специфічності отриманої гіперімунної сироватки крові до *Pasteurella multocida*. Наведені в таблиці 2 дані свідчать про те, що отримана гіперімунна сироватка крові гусей до антиген-сенситину *Pasteurella multocida* штаму № 1931 є активною та специфічною.

Таблиця 2 – Результати досліджень активності та специфічності отриманої гіперімунної сироватки крові з деякими штамами антигенів в РНГА з антигеном антитільним еритроцитарним

Досліджувані сироватки	Результати досліджень в РНГА:		
	Пастерельоз птиці штам № 1931	Інфекційний бронхіт штам Cevac IBD-L	Ньюкаслська хвороба штам «Ла-Сота»
Гіперімунна штамом № 1931	1:256	0	0
Гіперімунна позитивна (специфічна) сироватка крові кроликів до пастерельозу штам № 1931	1:256	0	0
Нормальна кроляча	0	0	0
Специфічна до ньюкаслської хвороби	0	0	0
Специфічна до сальмонельозу	0	0	0
Специфічна до інфекційного бронхіту	0	0	0
Контроль з гліцеринізованим фізіологічним розчином	0	0	0

Як свідчать дані таблиці 2, отримана гіперімунна сироватка крові до бактерії *Pasteurella multocida* є активною та специфічною при перевірці її з гомологічними та гетеро-логічним антигенами.

Наведені дані свідчать, що виробничий штам *Pasteurella multocida* № 1931 має високі імуногенні властивості. При його застосуванні в якості імунізуючого субстрату, згідно розробленої нами схеми імунізації птиці, даний антиген з ад'ювантом Фрейнда стимулює приріст пастерельозних специфічних антитіл у титрах 1:256 і дозволяє отримати активну та специфічну гіперімунну сироватку крові.

Висновки. 1. Установлено, що виробничий штам *Pasteurella multocida* № 1931 має високі імуногенні властивості.

2. При застосуванні вищевказаного штаму в якості імунізуючого агенту згідно розробленої нами схеми імунізації птиці стимулює приріст специфічних антитіл до пастерельозу (холери) птиці у високих титрах, що дозволяє отримати активні та специфічні гіперімунні сироватки крові.

Список літератури

1. Гадзевич, Д.В. Отримання високоактивних сироваток до вірусу інфекційної бурсальної хвороби [Текст] / Д.В. Гадзевич // Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2008. Вип. 91. – С. 140-143. **2.** Герман, В.В. Пастерельоз [Текст] / В.В. Герман, Б.Т. Стегній, П.І. Вербицький – Х.: Фоліо, - 2002. – 62 с. **3.** Кэлнека, Б.У. Пастереллез [Текст] / Б.У. Кэлнека, Х. Джона Барнса, Чарльза У. Биэрда, Ларри Р., Магдугалда И.М. Сэйфа; под ред. Б.У. Кэлнека. - [10-е издание]. – М.: Акваріум, - 2003. – 196 с. **4.** Рубан, Б.В. Птицы и птицеводство [Текст]: учебное пособие / Б.В. Рубан. Х.: Эспада, 2006. – 400 с. **5.** Практикум з ветеринарної вірусології [Текст]: учб. посібник / В.Г. Скибіцький., [і ін.]. – К.: Вища освіта, 2005. – 94 с. **6.** Скиба, Б.С. Болезни бройлеров: практическое руководство по профилактике и лечению [Текст]: справочник [для врачей ветеринарной медицины птицеводческих хозяйств] / Б.С. Скиба, С.Н. Гречихин. – К.: 2008. – С. 3-7.

RECEIPT OF HYPERIMMUNE BLOOD SERUM FOR MAKING OF OF ANTIBODY ERYTHROCYTIC ANTIGEN FOR DIAGNOSTICS OF AVIAN PASTEURELLOSIS (CHOLERA) IN REACTION OF INDIRECT HEMAGGLUTINATION

Plys V.N.

Dnipropetrovsk Experimental station of the National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Dnipropetrovsk

Stegniy B.T.

National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

The hyperimmune blood serum of birds has been received for making of of antibody erythrocytic antigen for diagnostics of avian pasteurellosis (cholera) in the reaction of indirect hemagglutination and its specificity and antigen activity has been studied.