

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 2, Number 38 (2017), 240 – 246

N. N. Yegorova, A. K. Mussaeva

«Kazakh scientific-research veterinary institute» LLP, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: musaeva.1955@mail.ru

**VACCINATION AGAINST
SALMONELLOSIS ABORTION OF MARES**

Abstract. In the article it was adduced the results of investigations of pathological material abortions of mare and questions of diagnostics and preventive maintenance salmonellosis abortion of mares are resulted. On the grounds of clinical-and-epizootological data, bacteriological, biochemical investigations from the foal abortus it was defined the *Salmonella abortus equi* the pathogen of salmonellosis abortion of mares.

Key words: abortion of mares, *Salmonella*, pathological material, infection, diagnosis, prevention.

УДК 619:616-08+619.1:616.9(574)

Н. Н. Егорова, А. К. Мусаева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан

**ВАКЦИНАЦИЯ КОБЫЛ
ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА**

Аннотация. В статье рассматриваются вопросы диагностики и профилактики сальмонеллезного аборта кобыл. Приводятся результаты исследований по изучению культурально-морфологических, биохимических и антигенных свойств эпизоотических штаммов сальмонелл, выделенных от абортированного плода кобыломатки.

Ключевые слова: аборт кобыл, сальмонеллы, патологический материал, инфекция, диагностика, профилактика.

Введение. Сальмонеллезный аборт кобыл одна из распространенных инфекционных болезней лошадей, наносящая значительный экономический ущерб коневодству республики. Коневодство в Республике Казахстан является важнейшей отраслью животноводства в силу исторически сложившихся условий. По численности поголовья лошадей республика занимает одно из первых мест в СНГ. По последним статистическим данным Комитета ветеринарного контроля и надзора в республике насчитывается свыше 1,5 млн лошадей, из них около половины кобылы. Имеется большое количество неучтенных лошадей, находящихся в частных подворьях, фермерских хозяйствах, конезаводах. Большой процент среди поголовья лошадей составляют племенные чистокровные животные. В последнее время элитные дорогостоящие лошади завозятся из зарубежных стран. Стоимость элитных пород очень высока, племенные животные составляют генофонд республики [1, 2].

Одним из направлений экономического развития республики является повышение эффективности научных исследований в пользу здоровья лошадей, сокращение сроков внедрения достижений науки в производство. Существенное значение в увеличении поголовья и продуктивности лошадей имеет диагностика и профилактика инфекционных болезней, среди которых важное место занимает сальмонеллезный аборт кобыл [3, 4].

Сальмонеллезный аборт кобыл – распространенная болезнь жеребых кобыл, сопровождающаяся преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода. Возбудитель *Salmonella abortus-equi* открыт в 1893 году Smith и Kilborne в Америке, в 1901 году Д. В. Поляковым в России. В литературе иногда встречается под названием *Salmonella abortiva-equina* (синоним) [2]. Первые сведения по эпизоотологии болезни в республике были опубликованы в 1940 и 1950-х годах, из которых вытекает, что инфекционные аборты среди кобыл в Казахской ССР регистрировались с начала 30 –х годов прошлого века.

Кобылы заражаются через пищеварительный тракт, особенно в период абортов. У зараженных кобыл клинически выраженных симптомов болезни нет, сальмонеллы локализуются в кишечнике, периодически выделяются с фекалиями. Аборты сальмонеллезной этиологии происходят во второй половине жеребости (7-11 месяцев) и носят массовый характер. Жеребята заражаются внутриутробно и после рождения погибают. У жеребят болезнь протекает в виде бактериемии и общего токсикоза, энтерита (в раннем возрасте, хронического полиартрита и истощения (в 3-6 месячном и старшем возрасте), приводящих к гибели животных. Абортировавшие кобылы тяжело болеют после аборта [5, 6].

Материал и методы. Диагностика заболевания осуществляется на основании клинико-эпизоотологических, патологоанатомических данных, а также результатов бактериологического и серологических исследований. Патологоанатомические изменения изучают при вскрытии абортированных плодов по общепринятой методике. От абортплодов исследуют паренхиматозные органы с учетом наибольшей локализации сальмонелл (печень, лимфатические узлы, селезенку, сердце, почки, костный мозг). Культуральные свойства выделенных культур определяют путем посева их на жидкие, полужидкие и плотные питательные среды. Морфологию сальмонелл изучают путем микропирования мазков, приготовленных из агаровых суточных культур, окрашенных по Граму и простым способом. Способность сальмонелл ферментировать те или иные углеводы является одними из основных дифференцированных показателей, позволяющих проводить их быструю и качественную идентификацию [7]. Биохимические свойства культур определяют по их способности ферментировать углеводы (с образованием кислоты и газа), с этой целью используют среду Гисса, содержащую тот или иной углевод в концентрации 0,5%, и индикатор Андрэде. О наличии ферментации судят по изменению цвета индикатора. Наблюдение ведут в течение двух суток. Антигенную структуру тестируемых штаммов сальмонелл изучают с поливалентными и монорецепторными агглютинирующими сыворотками. Для определения О-антигена культуру берут с верхней части скошенного в пробирке агара, а для определения Н-антигена с нижней части агара. Во всех случаях определяют отношение культур к глицерину, желатину, сероводороду и индолу. Полученные при изучении культур данные обязательно должны соответствовать основным характеристикам эталонных коллекционных штаммов. Таксономическое распределение культур проводят согласно определителю бактерий *Bergey's (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005)* [8, 9].

Результаты исследования. С января по апрель месяцы 2016 года в одном из фермерских хозяйств Алматинской области, специализирующемся по разведению элитных племенных лошадей, у жеребых кобыл произошли массовые аборты. В хозяйстве абортировали несколько глубоко жеребых кобыл. Для диагностических исследований поступил патологический материал от 5 абортированных плодов и 2-х жеребят однодневного возраста. Аборты у кобыл произошли на последних месяцах жеребости. Плоды были сформированы, имели шерстный покров и копытца.

Абортплод кобыломаток представлен на рисунке 1.

На рисунке 1 показаны патологические изменения в паренхиматозных органах. Видна гиперплазия, по всей поверхности паренхиматозных органов и на перикарде отмечаются точечные кровоизлияния и гнойно-некротические очажки в легких.

Патологические изменения наблюдались в брюшной и грудной полостях. Отмечался комплекс воспалительных, дистрофических, некротических и гранулематозных изменений в тканях органов, множественные кровоизлияния в них, под серозным покровом, в слизистых оболочках кишечника. Сердце увеличено, миокард дряблый. Паренхиматозные органы дряблые, перерожденные с точечными и полосчатыми кровоизлияниями. Для диагностических исследований от абортплодов и жеребят доставлены кусочки паренхиматозных органов (печени, селезенки, сердца), а также труб-



Рисунок 1 – Патологические изменения во внутренних органах абортплода

чатая кость с костным мозгом. Посевы делали на МПБ, МПА, висмут – сульфитный агар, среды Эндо и Клиглера из селезенки, печени, сердца, костного мозга плода. Через 18 часов от абортированных плодов и жеребят выделили чистые культуры сальмонелл, которые затем дифференцировали по культурально-морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам. На МПА росли круглые, блестящие, выпуклые влажные колонии с голубоватым оттенком. На рисунке 2 представлены культуры сальмонелл, выделенные из печени абортплода кобыломатки и костного мозга однодневного жеребенка.



Рисунок 2- Культуры *Salmonella abortus-equi*, выделенные из патматериала от абортплода и новорожденного жеребенка

На рисунке 2 виден рост мелких полупрозрачных нежных колоний. Обе культуры сальмонелл идентичны.

На дифференциально-диагностических средах отмечался характерный рост *Salmonella abortus-equi*. На висмут-сульфитном агаре росли типичные колонии с характерным блеском (*S. abortus-equi* не окрашивает среду в черный цвет), на среде Эндо-розоватые колонии (сальмонеллы не разлагают лактозу, входящую в состав среды, поэтому не окрашивают среду. Эшерихии окрашивают среду в красно-малиновый цвет). Верхняя часть среды Клиглера окрашивалась в ярко-красный цвет,

нижняя – в желтый. Такая окраска среды отмечается при росте сальмонелл, эшерихии окрашивают среду равномерно в желтый цвет. При микроскопии мазков, приготовленных из суточных агаровых культур, наблюдались полиморфные грамтрицательные мелкие палочки с закругленными концами. Культуры агглютинировались в РА на стекле с поливалентной и монорецепторными сыворотками производства Краснодарской биофабрики. Культуры сальмонелл агглютинировались сыворотками O – IV (++++), XII (+++), H – eпх (+++). При посеве уколом на ПЖА наблюдалась характерная подвижность сальмонелл (подвижные палочки). Выделенные 7 культур идентифицировали методом изучения биохимических свойств путем культивирования на среде Гисса. Сальмонеллы не изменяли инозит, глицерино-фуксиновый бульон, раффинозу, салицин; сероводород не образовывали (этот признак отличает *Salmonella abortus-equi* от других серотипов сальмонелл и является маркерным); ферментировали глюкозу, маннит, арабинозу, дульцит, ксилозу, рамнозу с образованием кислоты и газа.

На основании клинико-эпизоотологических данных, культурально-морфологических, биохимических и антигенных свойств 7 эпизоотических культур, выделенных из абортплодов кобыломаток и 2-х однодневных жеребят отнесены к *Salmonella abortus-equi*. По биологическим свойствам выделенные эпизоотические изоляты идентичны коллекционному эталонному штамму *Salmonella abortus-equi* E-841 (коллекционный номер В - 0147).

Биопробу ставили на 21 белой мыши массой 18-20 г., по головы на каждую культуру. Вирулентные свойства культуры определяли путем подкожного введения 0,2 см³ суточных бульонных культур сальмонелл из печени и костного мозга. Белые мыши пали на 2-3 сутки после заражения, что свидетельствует о высокой вирулентности выделенных культур сальмонелл. Контрольные мыши оставались живы в течение всего срока наблюдения (10 дней). Из печени, крови сердца павших мышей делали посевы на МПБ, МПА. Из органов биопробных мышей высевалась культура *Salmonella abortus-equi*, не контаминированная посторонней микрофлорой.

На рисунке 3 представлен рост суточной *Salmonella abortus-equi* на МПА, выделенной от биопробных мышей.



Рисунок 3 – Рост суточной *Salmonella abortus-equi* на МПА, выделенной от мышей

На рисунке 3 показан рост *Salmonella abortus-equi*, выделенной из сердца павшей мыши. Видны круглые полупрозрачные выпуклые колонии сальмонелл, располагающиеся одиночно, в S-форме. Культура чистая, не контаминированная посторонней микрофлорой.

Вакцинальная культура E-841 высевается из органов и крови белых мышей в течение 20 суток, из селезенки и лимфатических узлов до 25 суток; от морских свинок в течение двух недель. Подкожная иммунизация морских свинок не вызывает микроскопических изменений. Сухая вакцина соответствует современным отечественным и международным стандартам: малые дозы, умеренная реактогенность, высокая иммунизирующая активность, экономичность и простота изготовления.

Специфическая профилактика сальмонеллезного аборта кобыл основана на вакцинации жеребых кобыл. Для профилактики сальмонеллезного аборта кобыл в Республике Казахстан применяется живая сухая вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл из штамма B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841, изготавливаемая из аттенуированного (ослабленного) штамма сальмонелл. Штамм получен из вирулентной культуры *Salmonella abortus – equi* под влиянием химического мутагена – нитрофуранов с последующей селекцией мутантов и отбором клонов. Штамм *Salmonella abortus – equi* E-841 утратил abortогенные свойства, имеет умеренную остаточную вирулентность, обладает высокой иммуногенностью. Штамм E-841 обладает типичными для *Salmonella abortus – equi* культуральными, биохимическими и антигенными свойствами. Существенным отличием штамма E-841 от вирулентного прототипа является ауксотрофность в отношении тиамина и никотиновой кислоты; штамм E-841 образует аргинин – декарбоксилазу и слабозлизин – декарбоксилазу. Вирулентность вакцинного штамма снижена в 20 раз по сравнению с природным прототипом. Аттенуированный вакцинный штамм не способен вызывать заболевание у кобыл. Вакцинный штамм E-841 сохраняет слабую остаточную вирулентность и не реверсирует при пассировании на восприимчивых животных (белые мыши, куриные эмбрионы). Утрата штаммом E-841 abortогенных свойств подтверждается опытами вакцинопрофилактики лиофилизированной культурой глубоко жеребых кобыл (за 2-3 месяца до выжеребки) в дозе 1,2 – 1,5 млрд. живых м. к., а также вакцинацией жеребых кобыл.

В ТОО «КазНИВИ» производится вакцина против сальмонеллезного аборта кобыл из аттенуированного штамма сальмонелл. Разработана технология изготовления вакцины состоит из восьми основных производственных этапов. Вакцинный штамм засевают в колбы Тартаковского или реакторы и культивируют 20 часов, затем бактериальную массу смывают, доводят концентрацию до 20 млрд/см³, фасуют и лиофильно высушивают.

Таким образом, технология изготовления вакцины включает культивирование вакцинного штамма сальмонелл на питательной среде в две стадии, концентрирование полученной бактериальной массы, расфасовку и лиофилизацию. Штамм *Salmonella abortus-equi* E-841 B-0147 культивировали на плотной питательной среде, довели концентрацию микробной массы до 20 млрд м. к./см³, фасовали, лиофилизировали в сахарозо-желатиновой среде и получали вакцину.

Изготовление вакцины состоит из работы с производственными вакцинным и контрольным штаммами - контроль биологических свойств, поддержание и хранение; приготовления питательных сред; выращивания культуры 1-й генерации; выращивания культуры 2-й генерации; производственного выращивания вакцинного штамма; составления серии вакцины; расфасовки; замораживания и высушивания; подсчета иммунизирующей дозы по количеству живых сальмонелл на одну кобылу; подсчета иммунизирующей дозы по количеству живых сальмонелл в ампуле; учета производственных процессов; контроля вакцины на стерильность, безвредность и иммуногенность. Контроль вакцины проводят путем определения следующих показателей: внешнего вида; стерильности; наличия вакуума ампулах; концентрации водородных ионов (рН); растворимости; массовой доли влаги; типичности роста; количества сальмонелл в 1 см³ по стандартному образцу ГИСК им. Тарасевича, млрд.; количество живых сальмонелл в 1 см³ после сушки, млрд.; безвредности; иммуногенной активности. Не допускается наличие посторонней примеси, следов оттаивания, трещин ампул.

Вакцина защищает кобыл от сальмонеллезного аборта. Вакцинация жеребых кобыл в период 4-7 месячной жеребости проводится с профилактической целью однократно. Жеребята и молодняк прививаются по показаниям. Вакцину перед применением разводят стерильным физиологическим раствором или охлажденной кипяченой водой из расчета 3 см³ на каждую дозу вакцины. Кобылам вводят 3 см³ подкожно в верхнюю треть шеи. Вакцина сообщает привитым животным иммунитет высокого напряжения. Местная реакция после прививки у кобыл проявляется в виде умеренного

отёка на месте введения, который рассасывается в течение недели. У отдельных животных возникает общая реакция: повышение температуры до 40 °С и угнетение в первые двое-трое суток после вакцинации. Иммунитет у вакцинированных животных наступает в течение двух недель и сохраняется 12 месяцев.

Эпизоотологические наблюдения и отзывы специалистов хозяйств свидетельствуют о безопасности и высокой вакцинации жеребых кобыл. Систематические прививки живой вакциной из штамма E-841 защищают животных от абортсальмонеллезной этиологии, увеличивают выход жеребят, надой молока, в результате чего хозяйства получают большой экономический эффект.

Вакцина во флаконе после лиофильного высушивания представлена на рисунке 4.



Рисунок 4 – Вакцина сухая живая против сальмонеллезного аборта кобыл из штамма E-841

На рисунке 4 виден флакон с вакциной и коробка для упаковки флаконов. Флакон с лиофильно высушенной вакциной содержит 20 доз.

Вакцинный штамм B-0147 *Salmonella abortus – equi* E-841 депонирован в республиканской коллекции микроорганизмов РГП на ПХВ «НРЦВ» КВКиН МСХ РК (г. Астана). В РКМ депонирован также контрольный штамм *Salmonella abortus–equi*, применяющийся для контроля иммуногенной активности вакцины [10].

Рекомендации по борьбе сальмонеллезным абортс кобыл. В случае вспышки в хозяйстве абортс у кобыл необходимо отобрать пробы патологического материала от абортированного плода: кусочки печени, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов, сердца, трубчатую кость с костным мозгом. Нет необходимости доставлять цельный абортс плод. Патматериал отбирают небольшими кусочками. Материал должен быть свежим. Наряду с сальмонеллезным абортс у глубоко жеребых кобыл регистрируются абортс вирусной этиологии (ринопневмония лошадей, вирусный артериит лошадей), встречающиеся значительно реже, чем абортс сальмонеллезной этиологии. Для дифференциации вирусных абортс вместе с патматериалом для исследования нужно предоставить сыворотки крови абортировавших кобыл для серологических исследований на РПЛ и ВАЛ.

При появлении абортс у кобыл необходимо провести дезинфекцию помещений, пастбищ, инвентаря, изолировать абортировавших кобыл от здоровых. Необходима тщательная механическая уборка и дезинфекция с применением эффективного дезинфектанта (Глютекс, Ган, Сальвамед) или раствором каустической соды с 3% раствором формалина. Глютекс можно применять в присутствии животных.

Больных абортировавших кобыл рекомендуется лечить антибиотиками широкого спектра действия в соответствии с инструкцией по применению. Необходимо ежегодно в октябре-ноябре месяцах проводить поголовную вакцинацию жеребых кобыл (4-7 месячной жеребости) вакциной против сальмонеллезного аборта кобыл.

Выводы:

1. Клинико-эпизоотологические данные, результаты патологоанатомических, бактериологических, биохимических исследований и антигенных свойств сальмонелл, изолированных из абортплодов кобыл и новорожденных жеребят, позволили выделить и идентифицировать возбудителя сальмонеллезного аборта кобыл *Salmonella abortus- equi*.

2. Изолированные эпизоотические культуры были идентичны и по биологическим свойствам соответствовали эталонному штамму. Культуры *Salmonella abortus- equi* обладали высокой вирулентностью, вызывали гибель белых мышей на вторые сутки после заражения.

3. Для специфической профилактики сальмонеллезного аборта кобыл применяется вакцина сухая живая из аттенуированного штамма. Вакцинация жеребых кобыл в период 4-7 месячной жеребости проводится с профилактической целью однократно. Вакцина создает у кобыл напряженный иммунитет в течение 12 месяцев и защищает их от абортов сальмонеллезной этиологии.

Источник финансирования. Грантовый Проект МОН РК «Разработка технологии изготовления вакцины против сальмонеллезного аборта кобыл». Программа «Развитие науки» 217, подпрограмма «Грантовое финансирование научных исследований» - 102.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Досанов К.Ш., Мусаева А.К., Егорова Н.Н. Сроки профилактических ветеринарных обработок лошадей: Ветеринарный календарь. – Алматы, 2012. – 23 с.
- [2] Юров К.П. Инфекционные болезни лошадей. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 184 с.
- [3] Матвиенко Б.А. Актуальные вопросы иммунопрофилактики сальмонеллезом животных // Болезни сельскохозяйственных животных: Тр. Алма-Атинского зооветинститута. – 1986. – С. 32-53.
- [4] Бияшев К.Б. и др. Сальмонеллезы животных и меры борьбы: Рекомендации. – Алматы, 1991. – 42 с.
- [5] Кадымов Р.А., Матвиенко Б.А. и др.// Ветеринарная микробиология. – М.: Колос, 1982. – С. 154-173.
- [6] Бутковский В.Ф. Изучение сальмонеллеза лошадей в Республике Саха (Якутия) // Эпизоотология и профилактика болезней животных в условиях Якутии. – Новосибирск, 1994. – С. 28-34.
- [7] Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий. – М.: Медгиз, 1959. – С. 86-87.
- [8] Хоулт Д. и др. Определитель бактерий Берджи: Каталог. – М.: Мир, 1997. – Т. I. – С. 192-193.
- [9] Определитель Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University. – USA, 2005. – Vol. 2. Part B. – P. 764-799.
- [10] Сансызбай А.Р. и др. Каталог культур микроорганизмов. – Алматы, 2005. – 264 с.

REFERENCES

- [1] Dosanov K.Sh., Musaeva A.K., Egorova N.N. Sroki profilakticheskikh veterinarnykh obrabotok loshadej: Veterinarnyj kalendar'. Almaty, 2012. 23 P.
- [2] Jurov K.P. Infekcionnye bolezni loshadej. M.: Rosagropromizdat, 1991. 184 P.
- [3] Matvienko B.A. Aktual'nye voprosy immunoprofilaktiki sal'monellezov zhyvotnyh // Bolezni sel'skhozajstvennyh zhyvotnyh: Tr. Alma-Atinskogo zoovetinstituta. 1986. P. 32-53.
- [4] Bijashev K.B. i dr. Sal'monellezy zhyvotnyh i mery bor'by: Rekomendacii. Almaty, 1991. 42 p.
- [5] Kadymov R.A., Matvienko B.A. i dr.// Veterinarnaja mikrobiologija. M.: Kolos, 1982. P. 154-173.
- [6] Butkovskij V.F. Izuchenie sal'monelleza loshadej v Respublike Saha (Jakutija) // Jepizootologija i profilaktika boleznej zhyvotnyh v uslovijah Jakutii. Novosibirsk, 1994. P. 28-34.
- [7] Kaufman F. Semejstvo kishhechnykh bakterij. M.: Medgiz, 1959. P. 86-87.
- [8] Hoult D. i dr. Opredelitel' bakterij Berdzhii: Katalog. M.: Mir, 1997. Vol. I. P. 192-193.
- [9] Opredelitel' Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University. USA, 2005. Vol. 2. Part V. P. 764-799.
- [10] Sansyzbaj A.R. i dr. Katalog kul'tur mikroorganizmov. Almaty, 2005. 264 p.

Сведения об авторах:

Мусаева А.К. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»

Егорова Н.Н. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела по разработке и внедрения биопрепаратов ТОО «КазНИВИ»