

АННОТАЦИЯ

**на диссертацию Жолдасбековой Асель Еркинбековой на тему:
«Иммунопрофилактика против сальмонеллеза крупного рогатого
скота» на соискание ученой степени доктора философии PhD по
специальности 6D120100 - Ветеринарная медицина**

Актуальность темы

Современная аграрная политика в нашей стране направлена на выполнение основной задачи – удовлетворение все более растущих потребностей народа в продуктах питания. Для успешного решения этих задач необходимо обеспечить дальнейший рост производства продукции животноводства. Сохранение новорожденных животных и выращивание здорового, хорошо развитого и приспособленного к новым условиям содержания молодняка составляет основу увеличения выхода продукции животноводства.

Развитие животноводческих хозяйств невозможно без создания стойкого благополучия по инфекционным болезням, в том числе и по сальмонеллезу.

Проблема сальмонеллеза животных приобретает все большую актуальность. Это связано с широкой циркуляцией многочисленных сероваров сальмонелл в природе, полидетерминантностью факторов вирулентности возбудителей, разнообразием путей внедрения в организм животного и человека. Ущерб, наносимый этой болезнью заключается не только в гибели животного, но и в том, что переболевшие животные в течении длительного периода времени являются бактерионосителями и становятся постоянными источниками контаминации окружающей среды. Продукты животного происхождения (мясо, молоко, яйца), полученные от животных- сальмонеллоносителей при недостаточной тепловой обработке могут вызывать пищевые токсикоинфекции у людей и борьба с пищевыми токсикоинфекциями является весьма актуальной повседневной задачей ветеринарных и медицинских работников .

Эпизоотическая и эпидемиологическая напряженность по кишечным инфекциям, обусловленных возбудителями энтероинфекций, в последние годы повысилась в связи с изменениями методов разведения и откорма скота, а также правил зоотехнического и ветеринарного обслуживания животных. Вакцинация животных и птиц против сальмонеллеза животных стала необязательной, и в плане противоэпизоотических мероприятий Комитета ветеринарии МСХ РК она не предусматривается.

Согласно литературным источникам ежегодно Минздрав в Израиле регистрирует около 3000 случаев сальмонеллеза. Пики заболеваемости приходятся на самые жаркие месяцы, поскольку эта бактерия очень любит тепло. По данным Минздрава, в июле-августе 2017 года сальмонеллезом заболели в стране 1327 человек, за аналогичный период прошлого года – 1084 человека, в 2015 – 825 человек, в 2014 — 1007, в 2013 – 943. То есть рост действительно есть, но без серьезного анализа трудно определить,

связан он с ухудшением санитарно-эпидемиологической ситуации в стране или с какими-то иными факторами.

Несмотря на это, все-таки можно говорить о том, что и при таких цифрах все же годовой уровень заболеваемости находится в пределах обычного фона. Кроме того, мировая статистика свидетельствует: за последние 15 лет заболеваемость сальмонеллезом возросла во всем мире. В последние месяцы повышенный уровень заражения сальмонеллой был отмечен в таких странах, как Великобритания, Голландия, Италия, Венгрия, Норвегия, Швеция и др. По оценкам специалистов, это связано не только с тем, что единое экономическое пространство позволяет беспрепятственно «разносить» зараженную на одном предприятии пищевую продукцию веером по всем странам Евросоюза, но и с тем, что повысилась резистентность бактерии к антибиотикам, и то, что раньше ее убивало, теперь лишь делает ее сильнее.

По оценкам, в США, 1,4 миллиона человек ежегодно подвержены этой инфекции. Материальные затраты оцениваются в 2,6 миллиарда долларов США в год, включая медицинские расходы, потерю производительности, убытки производителей продуктов питания и предприятий общественного питания, а также затраты на исследования.

Эпидемическая ситуация по сальмонеллезам в Российской Федерации является неблагоприятной. В среднем за период 2009-2012 г.г. регистрировалось около 50000 случаев в год. Летальность, составляет 0,01-0,02 на 100 тысяч населения, среди детей – 0,03. При этом, продукты птицеводства рассматриваются как главный путь передачи инфекции человеку

Экономический ущерб, при регистрации около 50000 случаев сальмонеллезной инфекции человека в год составляет 1.55 млрд. рублей (только медицинские расходы).

В сложившихся социально-экономических условиях особенности борьбы с заболеваниями, общими для человека и животных, в значительной степени связаны с развитием частного сектора в животноводстве, бесконтрольной миграцией скота, в том числе из неблагоприятных регионов. Это затрудняет учет и проведение вакцинопрофилактики животных, создает трудности в осуществлении государственного ветеринарного и санитарно-эпидемиологического надзора. Исключительная стойкость возбудителей энтероинфекций и их циклическое возрастание активности обуславливают периодические резкие подъемы заболеваемости. Увеличение масштабов и интенсивности освоения территорий, где располагаются активно действующие природные очаги, приводит к широкому распространению этих заболеваний среди населения.

Профилактика зооантропонозов в первую очередь основана на своевременном выявлении опасности заражения людей той или иной инфекцией. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности инфекции, эффективные средства профилактики и возможности их применения определяют выбор основных мероприятий. В одних случаях это

могут быть режимно-ограничительные мероприятия, в других - ветеринарно-санитарные, санитарно-противоэпидемические меры, использование средств специфической профилактики и др.

Все это вызывает необходимость изучения эпизоотической ситуации по этой инфекции, вскрытия основных факторов инфекционного процесса, а также совершенствования лечебной и специфической профилактики и разработки ветеринарно-санитарных мероприятий.

Вопросы профилактики сальмонеллеза чаще всего сводятся к вакцинации, как наиболее традиционному и универсальному методу.

При сальмонеллезах животных наиболее изучены различные варианты убитых вакцин. Некоторые из них применяются и в настоящее время. Однако, практика показала, что убитые вакцины не создают достаточно напряженного иммунитета у молодняка животных, особенно в тех хозяйствах, где вспышки заболеваний обуславливаются энтеропатогенными сальмонеллами.

Б.А. Матвиенко отмечает, что многолетний опыт использования убитых вакцин свидетельствует об их недостаточной иммуногенной эффективности, особенно в условиях животноводческих комплексов. Иммуногенная активность их находится в прямой зависимости от количества микробных клеток и продуктов их распада (эндотоксинов). Они слабо стимулируют иммунную систему против сальмонеллез в силу определенной деградации антигенных свойств под влиянием физико-химических воздействий на микробную клетку, ограниченной циркуляции антигена. Существенным недостатком убитых вакцин является необходимость многократных прививок.

Многолетние проведенные исследования, показали, что применяемые инактивированные вакцины формируют иммунитет недостаточного напряжения и длительности. В этой связи постоянно проводились и проводятся поиски усовершенствования различных направлений: совершенствование методов приготовления корпускулярных вакцин (бульонные и агаровые вакцины, инактивированные смывами различными физическими и химическими агентами); подбором для вакцин полноценных в антигене отношении штаммов; использования адъювантов, повышающих иммуногенные свойства вакцин.

В настоящее время в странах СНГ, по-прежнему стандартной вакциной против сальмонеллеза телят является концентрированная формолквасцовая вакцина (ВГНКИ). Вакцину готовят из вирулентного штамма *S.dublin*.

Как показывает практика, вакцинопрофилактика молодняка раннего возраста не всегда бывает эффективной, что, объясняется физиологической незрелостью организма и ненормальным микроклиматом помещений (низкая температура и повышенная влажность). Вакцинация в двух-пятисуточном возрасте является сильным стресс- фактором, способствующим возникновению острых расстройств пищеварения.

В последние годы в нашей стране и за рубежом для профилактики сальмонеллеза у сельскохозяйственных животных и птиц с успехом

применяют живые вакцины на основе аттенуированных штаммов

В Казахстане в течение десятка лет проводились значительные исследования по изучению аттенуированных штаммов сальмонелл и иммунологическому обоснованию применения живых вакцин. Родоначальником получения и внедрения в ветеринарную практику Казахстана живых вакцинных штаммов сальмонелл являются профессора Б.А.Матвиенко и К.Б.Бияшев.

Разработанные ими живые вакцины в течение многих лет апробированы и применяются в хозяйствах республики против сальмонеллеза телят, свиней, лошадей и овец.

В связи с этим совершенствование специфической профилактики сальмонеллеза крупного рогатого скота путем разработки и внедрения живых вакцин, из генетически охарактеризованных штаммов сальмонелл, является актуальной проблемой.

Цель и задачи исследований.

Цель работы - Разработка технологии производства живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

Для решения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Изучить степень распространенности сальмонеллеза у крупного рогатого скота в различных регионах Казахстана;

2. Изучить биологические свойства, выделенных культур сальмонелл.

3. Изучить биологические свойства аттенуированного штамма S.dublin 31 на лабораторных животных и телятах.

4. Разработать технологический регламент производства живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

5. Апробация живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота в производственных условиях и разработка нормативно-технической документации по изготовлению и контролю вакцины.

Результаты исследовательской работы

Работа выполнялась в период с 2015 по 2017 годы в лаборатории противобактериозной биотехнологии Казахского Национального аграрного университета, а также в ряде хозяйств Казахстана.

Исследовательская часть работы включает литературный поиск, сбор информационных и статистических материалов, публикуемых в отечественных и зарубежных научных изданиях, в официальных сборниках Международной программы МЭБ и ВОЗ по контролю и надзору за инфекциями и токсикоинфекциями в Европе, Центра по контролю заболеваемости в США и других опубликованных источниках.

С целью изучения распространенности сальмонеллеза крупного рогатого скота исследования проводили в разных хозяйствах Алматинской, Жамбылской, Кызылординской областях. В большинстве обследованных хозяйств заболевания наблюдаются на протяжении нескольких лет.

Вопросы эпизоотологии сальмонеллеза крупного рогатого скота изучались непосредственно в хозяйствах. Использовались годовые отчеты областной и районных ветеринарных лабораторий и данные ветеринарной

отчетности отдела ветеринарии областной территориальной инспекции МСХ РК.

В неблагополучных хозяйствах по массовым кишечным заболеваниям животных бактериологическому исследованию подвергнуто 140 проб патологического материала, полученных от телят с клиническими признаками диареи.

Для посмертной бактериологической диагностики исследовали 160 проб от павших телят в течение первых десяти суток. Для исследования брались печень, селезенка, легкие, брыжеечные лимфатические узлы, тонкий отдел кишечника, сердце, трубчатая кость.

Для прижизненной бактериологической диагностики исследовали 50 проб фекалий у здоровых телят, не подвергавшихся лечению антибактериальными препаратами. Пробы фекалий брали от больных и здоровых телят в стерильные пробирки непосредственно из прямой кишки с помощью прокипяченного резинового катетера.

В результате проведенных исследований органов от больных и павших телят, а также из фекалии здоровых телят нами выделены и идентифицированы 179 культур сальмонелл, в том числе от больных телят – 45, от павших – 116 и от здоровых телят – 18.

Проведенные исследования по изучению морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств 179 культур, выделенных от больных и павших телят, а также из фекалии здоровых телят были типичными для рода Сальмонелл.

При идентификации 179 культур сальмонелл, выделенных от больных и павших телят, а также из фекалии здоровых телят установлено, что к *Salmonella dublin* относятся – 121(68,0%), *Salmonella typhimurium* - 38 (21,0%) культуры, *Salmonella enteritidis* – 20 (11,0%).

Целью дальнейших наших исследований явилось определение патогенности сальмонелл, выделенных от животных для отбора производственных штаммов возбудителей энтероинфекций, которые будут использованы для изготовления инновационных биопрепаратов против энтеробактериоциноза крупного рогатого скота.

Предварительно нами патогенность всех выделенных культур проверяли на белых мышах, которым вводились внутрибрюшинно в дозах 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 и 10^9 колониеобразующих единиц. Результаты опыта свидетельствовали, что подопытные животные погибали полностью при заражении дозой 10^5 КОЕ и выше.

В результате, на основе изучения морфологических, биохимических и антигенных свойств и степени патогенности выделенных культур были отобраны штаммы сальмонелл, выделенных от павших телят: *S.dublin* 76, *S.typhimurium* 69, *S.enteritidis* 54 (по 3 штамма от каждого серовара сальмонелл).

Вирулентность культур *S.dublin* 76, *S.typhimurium* 69, *S.enteritidis* 54 была изучена в опытах на белых мышах.

Результаты опыта показали, что исследуемые культуры обладают достаточно высокой вирулентностью, особенно штаммы: *S.dublin* 76 и *S.typhimurium* 69, выделенные от павших телят, вызывающие 100% гибель подопытных животных при дозе 10^4 КОЕ и выше.

На телятах нами проверена вирулентность штаммов *S.dublin* 76, *S.typhimurium* 69, *S.enteritidis* 54. Все подопытные животные были месячного возраста. В качестве контроля нами в опыт взяты эталонные вирулентные штаммы *S.typhimurium* 371, *S.dublin* 315/52, *S.enteritidis* 51, взятые из ВГНКИ (Москва).

Подопытных телят заражали внутрибрюшинно суточной агаровой культурой в соответствующих дозах 10^9 , $2 \cdot 10^9$, $4 \cdot 10^9$, $6 \cdot 10^9$ КОЕ. Подопытные животные в основном погибали на 6-12 сутки после заражения с явными признаками сальмонеллеза.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об этиологической роли изученных сальмонелл в заболевании телят.

Наши исследования показали, что исследуемые штаммы сохранили типичные морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические, антигенные и патогенные свойства, характерные для соответствующих сероваров сальмонелл.

Изученный штамм *S.dublin* 76 был отобран в качестве исходного штамма для применения его при разработке и конструирования живой вакцины (используя метод аттенуации) против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

Задачей дальнейших наших исследований являлось получение аттенуированного штамма сальмонелл, изучение его биологических свойств, использование его в качестве вакцинного штамма для изготовления живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

В результате проведенных исследований получен аттенуированный штамм *Salmonella dublin* 31, имеющий генетические маркеры для отличия его от штамма естественного происхождения.

Штамм *Salmonella dublin* 31 был изучен по морфологическим, культуральным, антигенным свойствам, по стабильности аттенуации, иммуногенности, по безопасности вакцинного штамма и по дифференциации вакцинного штамма от культур естественного происхождения.

Результаты исследований свидетельствуют, что штамм *Salmonella dublin* 31 отвечает всем требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам: обладает стабильностью биологических свойств, умеренной реактогенностью и остаточной вирулентностью, высокой иммуногенностью для мышей, эпизоотически безопасен для использования и имеет три генетически маркера для отличия его от штамма естественного происхождения. Присутствие в штамме *Salmonella dublin* 31 трех мутаций с известными механизмами действия, служит убедительным генетическим доказательством стабильности и безопасности аттенуированного штамма *Salmonella dublin* 31. Теоретическая частота обратной мутации одновременно по всем маркерам составляет примерно 10^{-21} , что практически невозможно.

Полученный штамм *Salmonella dublin 31* депонирован в Коллекции микроорганизмов Республиканского государственного предприятия «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Министерства образования и науки Республики Казахстан (РГП НИИПББ КН МОН РК). Коллекционный номер М-42-15/D

Одним из важных требований к аттенуированным вакцинным штаммам является сохранение ими остаточной вирулентности, от чего зависит высокая иммунизирующая способность живой вакцины. В этой связи на протяжении всех опытов наше внимание обращалось на константность вирулентности.

Остаточная вирулентность вакцинного штамма *S.dublin31* проверялась в сравнении с вирулентной культурой *S. dublin 315/52* на белых мышах (весом 14-16 г) и телятах (в возрасте 8-10 суток) в нескольких повторениях, с учетом их выживаемости, диссеминации процесса и сроков элиминации культуры вакцинного штамма.

Белых мышей заражали суточной культурой аттенуированного штамма *S.dublin 31* подкожно в дозах 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 КОЕ и внутрибрюшинно в дозе 10^6 , 10^7 и 10^8 КОЕ.

Необходимо отметить, что указанные дозы штамма *S.dublin 31* соответствуют от 50 до 10000 смертельным дозам вирулентной культуры *S.dublin315/52* ($LD_{50}10^2$ КОЕ).

Все мыши, зараженные культурой *S.dublin 31*, в течение 20 суток наблюдения, выживают в 90-100 % случаев, тогда как контрольные, зараженные вирулентной культурой *S.dublin 315/52* в дозе 10^3 , 10^4 и 10^5 КОЕ погибали от 57 до 100 % случаев.

В опытах на телятах остаточная вирулентность штамма *S.dublin 31* изучалась при внутрибрюшинном введении. Всего использовано в опыте 70 телят. Вирулентность штамма контролировалась по выживаемости и общей и местной реакции.

Внутрибрюшинное заражение вакцинным штаммом *S.dublin31* не вызывало у животных заметного переболевания, только один теленок зараженный в большой дозе (10^{10} КОЕ) пал на 14 сутки без проявления явных клинических признаков заболевания.

Контрольные телята, зараженные вирулентной культурой *S.dublin 315/52*, погибали с симптомами острого сальмонеллеза.

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что аттенуированный штамм *S.dublin 31* обладает слабой остаточной вирулентностью.

Наряду с этим проводилось изучение степени диссеминации и сроков элиминации вакцинного штамма из организма животных. При подкожном заражении белых мышей вакцинным штаммом в дозе 10^6 КОЕ культура высевается из органов и крови в течение 15 суток, из паховых лимфатических узлов до 30 суток.

У телят, подкожно зараженных вакцинным штаммом в дозе $2 \cdot 10^9$ КОЕ в первые трое суток отмечается генерализованная вакцинальная инфекция; спустя 7 суток культура хорошо высевается из лимфатических узлов и селезенки, слабая высеваемость из печени и костного мозга; через 14 суток

культура в виде единичных колоний высевается из селезенки, предлопаточных, средостенных и брыжеечных лимфатических узлов.

Таким образом в опытах на лабораторных животных и телятах установлена неспособность аттенуированного штамма *S.dublin* 31 вызывать типичный инфекционный процесс.

Изучив культурально-биохимические, антигенные свойства и остаточную вирулентность аттенуированного штамма *S.dublin* 31 мы приступили к изучению иммуногенных свойств в опытах на лабораторных животных и телятах, сравнительно с концентрированной формолквасцовой вакциной биофабричного производства.

Иммуногенная активность штамма *S. dublin* 31 изучалась на белых мышах, во время которых испытывались различные дозы, учитывалась местная и общая реакция и напряженность иммунитета после контрольного заражения. Контролем служили животные, привитые концентрированной формолквасцовой вакциной и неиммунизированные.

Перед постановкой опытов вирулентный штамм *S.dublin* 315/52 протитрован на белых мышах и телятах. Из материалов титрации установлено, что вирулентный штамм *S.dublin* 315/52 вызывает гибель мышей в дозе 10 КОЕ, и телят в дозе $2 \cdot 10^9$ КОЕ при внутрибрюшинном введении.

Иммунизирующая активность вакцинного штамма изучалась вначале на 150 белых мышах (90 подопытных и 60 контрольных) весом 14-16 грамм. Мыши иммунизировались подкожно лиофилизированной культурой вакцинного штамма *S. dublin* 31 в дозах 10^4 , 10^5 и 10^6 КОЕ.

Контролем служили мыши, однократно иммунизированные концентрированной формолквасцовой вакциной в дозе 0,1 мл (5-10 КОЕ и непривитые).

Через 20 дней после вакцинации подопытные и контрольные мыши заражались вирулентным штаммом *S.dublin* 315/52 в дозе 10^6 КОЕ, контрольные (непривитые) в десять раз меньше - 10^5 КОЕ.

Материалы опыта свидетельствуют, что при однократной подкожной иммунизации культурой штамма *S.dublin* 31 в дозах 10^4 , 10^5 и 10^6 КОЕ у мышей создается иммунитет высокого напряжения. 100% подопытных мышей оставались живыми.

Мыши, иммунизированные концентрированной формолквасцовой вакциной (в дозе, превышающей 10 раз живую вакцину), при последующем подкожном заражении вирулентной культурой, погибали более чем на 70 %. Контрольные невакцинированные мыши в течении 10 суток все погибали.

Полученные материалы экспериментальных исследований на лабораторных животных позволили нам продолжить изучение иммунизирующих свойств аттенуированного штамма *S.dublin* 31 в опыте на телятах. Были определены безвредность, реактогенность и иммунизирующие дозы. При этом учитывалась возможность как ранних реакций (общая и местная), возникших после вакцинации, так и более поздних, отдаленных результатов прививки, которые могли быть обусловлены развитием

вакцинального процесса.

Всего в опыте было 45 телят 12-14 дневного возраста.

В первой группе 20 телят прививались вакциной из штамма *S. dublin* 31 в объеме 2 мл с содержанием 10^7 КОЕ в 1 мл.

Во второй группе 20 телят прививались концентрированной формолквасцовой вакциной двукратно в дозах 5мл и 10мл.

Третья группа – (5 телята) контрольными, вакцинации не подвергались.

Вакцина вводилась подопытным телятам в область верхней трети шеи.

Иммунизированные телята находились под наблюдением до 3-х месяцев

За подопытными телятами велось наблюдение, ежедневно измерялась температура тела. У вакцинированных телят штаммом 31, в первые сутки отмечалось состояние некоторой подавленности, небольшое повышение температуры тела на $0,5^{\circ}\text{C}$, аппетит сохранялся. На месте введения появлялись ограниченные отеки, которые рассасывались на 2-3 сутки.

Через 20 суток после прививки провели контрольное внутрибрюшинное заражение всех подопытных и контрольных (10) телят смывом суточной агаровой вирулентной культуры *S.dublin* 315/52 в дозе 10^{10} КОЕ. Напряженность иммунитета проверялась по степени выживаемости, общей и местной реакции и гастроэнтеритическими расстройствами.

В результате заражения у телят всех групп на следующие сутки наблюдалось повышение температуры тела от 40 до $41,5^{\circ}\text{C}$, которая в группе подопытных телят сохранялась в течение 2-6 суток. У 3-х телят отмечалась вялость, пониженный аппетит, учащение пульса и дыхания. Спустя 4 суток у этих телят признаки переболевания исчезли, аппетит восстановился. Других клинических отклонений не наблюдалось. Все подопытные телята остались живыми.

У телят 2-ой группы (привитых концентрированной формолквасцовой вакциной) высокая температура удерживалась в течение 7-10 суток. Повышение температуры сопровождалось значительным угнетением, уменьшением аппетита, учащенным сердцебиением и дыханием, а также перемежающимся поносом. У 4-х телят состояние оставалось угнетенным, наблюдалась одышка, частый, аритмичный пульс, кашель, резко снизилась упитанность и на 9-10 сутки они пали.

У контрольных телят на второй день после заражения отмечалось резкое угнетение, повышение температуры до $41,6^{\circ}\text{C}$ и $41,8^{\circ}\text{C}$, которая сохранялась до момента гибели животных: телята пали на 10-12-ые сутки после контрольного заражения. При вскрытии павших телят обнаружены типичные для острого сальмонеллеза изменения: наличие уплотненных участков в легких, кровонаполнение печени, резкое набухание лимфатических узлов (особенно предлопаточных, средостенных, брыжеечных), селезенки, слизистой тонкого отдела кишечника с кровоизлияниями. Кровоизлияния так же были обнаружены под капсулой почек и на предсердиях. Из крови (сердца), печени, желчного пузыря, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов обильно высевалась заражающая культура. При бактериологическом исследовании обильно

высевалась заражающая культура из органов, лимфатических узлов и костного мозга.

Учитывая высокие протективные свойства, исследуемый вакцинный штамм *S. dublin* 31 имеет все основания для широкого изучения его, как вакцины для специфической иммунопрофилактики сальмонеллеза крупного рогатого скота.

Разработана нормативно-техническая документация (Техническое условие, Временная инструкция по изготовлению живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота, Наставление по применению вакцины), утвержденная Институтом проблем анималогии НАО Казахского национального аграрного университета от 13.10.2017 г.

Предложена рекомендация «Сальмонеллез крупного рогатого скота и меры борьбы», утвержденная на НТС Института проблем анималогии КазНАУ от 13.10.2017 г.

Опасность вакцинального бактерионосительства исключается потому, что аттенуированный штамм *S.dublin* 31 не вызывает инфицирования при парэнтеральном заражении массивными дозами (белые мыши и телята) и не сопровождается развитием инфекционного процесса. Безопасность штамма *S.dublin* 31 подтверждается константностью биологических свойств. Аттенуированный штамм *S.dublin* 31 отвечает требованиям, предъявляемым к живым вакцинам: стабильностью биологических свойств, безопасностью для животных и хорошо выраженной иммунизирующей активностью.

Нами был проведен научно-производственный опыт в трех хозяйствах, неблагополучных по сальмонеллезу крупного рогатого скота: в К/х «Хабит» Алматинской области, КХ «Анисан» Актюбинской области и КХ «Туртан-Ата» Кызылординской области. В дальнейшем вакцина была успешно испытана еще в ряде хозяйств Казахстана неблагополучных по сальмонеллезу крупного рогатого скота

Животноводческие фермы указанных хозяйств на протяжении ряда лет были неблагополучными по сальмонеллезу. Новорожденные телята в хозяйствах подвергались систематической иммунизации концентрированной формолквасцовой вакциной согласно инструкции. Несмотря на это, на фермах наблюдались довольно частые случаи заболевания телят сальмонеллезом. У павших телят диагноз на сальмонеллез, вызванный *Salmonella dublin*, неоднократно подтверждался бактериологическими лабораториями.

Прививка вакциной из штамма *Salmonella dublin* 31 проводилась с охватом всего молодняка (независимо от упитанности и развития) подкожно, однократно, в области трети шеи, в дозе 1 мл (10^9 КОЕ).

За привитыми животными велись клинические наблюдения. Спустя несколько часов после вакцинации, у телят отмечалось кратковременное угнетение, аппетит сохранялся. Местная реакция сопровождалась образованием отека (размером 3x4-4x5 см), который рассасывался на 4-6 сутки. Наряду с этим вакцину испытали на коровах в последней стадии беременности, в дозе 2 мл ($2 \cdot 10^9$ КОЕ) подкожно, в области 1/3 шеи,

однократно. У коров на прививку развивалась только местная реакция. Телята от вакцинированных коров рождались жизнеспособными и не заболели сальмонеллезом.

Всего в течение 2015-2017 года, вакциной из штамма *Salmonella dublin* 31, привито в общей сложности более 2000 голов крупного рогатого скота, в том числе 960 коров за 20-25 суток до отела и 1040 телят. В этот период случаев заболевания телят и их гибели от сальмонеллеза не зарегистрировано.

Наблюдение за привитыми телятами и коровами показало, что вакцина против сальмонеллеза крупного рогатого скота из аттенуированного штамма *S. dublin* 31 не вызывает осложнений.

Эпизоотологические данные хозяйств, где проводились испытания вакцины в сравнении с предыдущими годами, свидетельствуют об эффективности и безопасности экспериментальной живой вакцины и указывает на возможность широкого применения ее в качестве одной из мер борьбы с сальмонеллезом крупного рогатого скота.

Экономическая эффективность в результате проведения иммунизации крупного рогатого скота живой вакциной из штамма *S.dublin* 31 достигается за счет снижения заболеваемости и падежа телят, трудозатрат и составила 60 тенге на один затраченный тенге. Экономический эффект при проведении плановой профилактической вакцинации животных против сальмонеллеза живыми вакцинами в 2—3 раза выше, чем при иммунизации животных убитыми вакцинами.

Эффективность иммунизации крупного рогатого скота в неблагополучных хозяйствах по сальмонеллезу изучали, проводя эпизоотологический анализ до и после ее использования и учитывая снижение процента заболеваемости, гибели телят

Научная новизна исследовательской работы

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об этиологической роли различных сероваров сальмонелл в возникновении заболеваний телят в неблагополучных по сальмонеллезу в ряде хозяйств Казахстана. Изучен аттенуированный штамм *S.dublin* 31, обладающий стабильностью биологических свойств, умеренной реактогенностью, слабой остаточной вирулентностью, высокой иммуногенной активностью, эпизоотически безопасный и имеющий генетическую метку, позволяющую дифференцировать его от эпизоотических прототипов.

Исследованиями установлено, что живая вакцина из аттенуированного штамма *S.dublin* 31 по своей иммуногенности превосходит вакцинные препараты, применяемые против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

Живая вакцина против сальмонеллеза крупного рогатого скота из штамма *S. dublin* 31 при однократном введении создает иммунитет высокого напряжения и вполне пригодна для специфической профилактики сальмонеллеза крупного рогатого скота и обладает возможностью сочетания с другими вакцинами. Наличие генетических маркеров позволяет в лабораторных условиях дифференцировать вакцинный штамм от полевых

при подозрении на сальмонеллез или при выделении сальмонелл в продуктах животного происхождения.

Практическая ценность работы. В практику предложена живая вакцина из аттенуированного штамма *S. dublin* 31 для профилактики сальмонеллеза крупного рогатого скота

Применение живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота в производственных условиях в ряде хозяйств республики позволило значительно снизить заболеваемость животных, падежа телят и улучшить эпизоотическую ситуацию в хозяйствах.

Разработана нормативно-техническая документация (Техническое условие, Временная инструкция, Наставление по применению «Живая вакцина против сальмонеллёза крупного рогатого скота»), утвержденная на НТС Института проблем анималогии КазНАУ от 13.10.2017 г .

Предложена рекомендация «Сальмонеллез крупного рогатого скота и меры борьбы, утвержденная на НТС Института проблем анималогии КазНАУ от 13.10.2017 г .

Основные положения работы, выносимые на защиту:

1. Вакцинный штамм *S.dublin* 31 и его биологические свойства.
2. Разработка и внедрение живой вакцины против сальмонеллеза крупного рогатого скота.

Апробация работы

По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе: 1 - в журналах с импакт-фактором.

- Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. India, Vol. 10(1), 2017, pages 162-163. Scopus;

5 в журналах, рекомендуемых ККСОН МОН РК:

- Ізденістер, нәтижелер;
- Известия НАН РК. Серия аграрных наук;
- «Ғылым және білім» научно-практический журнал, Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана;
- Вестник Науки Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина в которых отражены основные результаты экспериментальных исследований, 5 – в материалах международной конференции:
- Сборник материалов международной научно-практической конференции молодых ученых «Вклад молодых ученых в индустриально-инновационное развитие агропромышленного комплекса», Алматы, 2016;
- Материал XXX Международной научно-практической интернет – конференции «Проблемы и перспективы развития науки в начале третьего тысячелетия в странах Европы и Азии». Украина, 2016;
- Материалы XXXVI международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук», Москва, 2017;

2 –в международном журнале:

- Modern science, International scientific journal, Moscow 2018.

2 - Методические указания:

- «Fight salmonellosis in animals and it's prevention»;

- «Борьба с сальмонеллеза животных и их профилактика».
- Технические условия на препарат «Вакцина живая против сальмонеллеза крупного рогатого скота»;
- Временная инструкция по изготовлению и контролю препарата «Вакцина живая против сальмонеллеза крупного рогатого скота».

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа выполнена по общепринятому образцу. Она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждений полученных результатов, заключения, списка использованных источников из 106 наименований. Диссертация изложена на 98 страницах компьютерного текста, оформленного с соблюдением необходимых стандартов, иллюстрирована 13 таблицами и 18 рисунками.