

УДК: 619:636.5

АНАЛИЗ СПОСОБОВ ПОЛУЧЕНИЯ ЦВЕТНОГО АНТИГЕНА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПУЛЛОРОЗА- ТИФА ПТИЦ И ВОСПРОИЗВОДСТВА ПОГОЛОВЬЯ ПТИЦ

Ахмадалиева Л.Х.¹, главный специалист по подготовке кадров и патентоведению, Элмуродов Б.А.², зам.директора, д.вет наук, Исматова Р.А.², рук.проекта, к.вет. наук, Абдалимов С.², м.н.с.

Республика Узбекистан, НИИ каракулеводства и экологии пустынь¹,

e-mail: uzkarakul30@mail.ru

Республика Узбекистан, НИИ ветеринарии²,

e-mail: nivi@vetgov.uz

Аннотация

В материалах рассмотрены и проанализированы известные способы получения цветного антигена для диагностики пуллороза – тифа птиц и представлен способ упрощенного процесса изготовления пуллорозного антигена с увеличенным сроком хранения. Своевременное выявление заболевания позволит повысить воспроизводительную способность птиц и продуктивность птицеводства.

Ключевые слова : анализ, антиген, пуллороз-тиф, птицы, воспроизводство

Введение. Пуллороз - тиф птиц является прямой угрозой здоровья людей, поскольку заболевание передается людям в основном через яйца и мясопродукты. В виду отсутствия производства данного вида антигена аналог завозится из-за рубежа и дороговизна, которого не позволяет своевременно приобрести его в достаточном объеме для исследования всего поголовья птиц, находящихся в Республике Узбекистан, в связи с чем производство отечественного антигена для проверки позволит решить данную социальную и экономическую проблему заболевания в Республике Узбекистан, может повысить эффективность противопуллорозных мероприятий в Республике, а также повысить воспроизводительную способность птиц и продуктивность птицеводства.

В настоящее время известны разные способы получения цветного антигена для диагностики пуллороза – тифа птиц.

Целью исследований является анализ известных способов получения антигена и создание на их основе упрощенного процесса изготовления пуллорозного антигена с увеличенным сроком хранения.

Путем предметного поиска патентной и научной информации были найдены следующие способы изготовления антигена для диагностики пуллороза - тифа птиц.

Известен способ получения широкоприменяемого пуллорозного эритроцитарного антигена, предназначенного для прижизненной диагностики птиц реакцией непрямой гемагглютинации (РНГА) на стекле с каплей крови. Антиген готовят из штаммов *Salmonella gallinarum-pullorum*, которые должны находиться в S-форме. Изготовление эритроцитарного антигена состоит из выращивания бактериальной массы, получения полисахаридно-полипептидного комплекса, получение и консервирование эритроцитов барана, сенсибилизация консервированных эритроцитов полисахаридно-полипептидной фракцией, расфасовка и контроль. Недостатками способа являются: длительный процесс производства; многоступенчатая технология; применение дорогостоящих компонентов – крови баранов для получения эритроцитов [1].

Известен классический способ получения антигена для диагностики пуллороза – тифа птиц, применяемый ранее на всей территории России, который включает получение бактериальной массы возбудителя пуллороза птиц, а для повышения чувствительности и специфичности антигена из полученной бактериальной массы выделяют полисахаридно-

полепептидную фракцию и сенсibiliзируют ею формализованные эритроциты барана. Формализацию эритроцитов проводят 0,35-ным раствором формальдегида в течении 14ч. при 40°C. Сенсibiliзацию эритроцитов проводят последовательно при 80°C в течение 45 минут и при 40°C в течение 2-х часов. Полисахаридно-пептидная фракция выделена путем гидролиза бактериальной массы 0,1 норм. раствором уксусной кислоты при 90-92°C в течение 60 минут с последующим осаждением ее из гидrolитзата 8-10 объемами этанола.

Недостатками способа также являются: длительный процесс производства; многоступенчатая технология; применение дорогостоящих компонентов – крови баранов для получения эритроцитов [2].

Известен способ получения эритроцитарного антигена для диагностики пуллороза-тифа птиц, включающий выращивание бактериальной массы возбудителя пуллороза - тифа птиц, выделения бактериальной массы возбудителя пуллороза- тифа птиц, выделения из О-антиген фракции, гидролизованной 0,1% -ным раствором КОН при Т 92-94 о С в теч 12 мин. Сенсibiliзацию эритроцитов можно проводить в процессе формализации эритроцитов через 3-3,5 ч при 45-48оС в течение 4 час., затем при 41-42°C в течение 10-12 ч. (Патент RU 2070055, 1996 г.). Недостатками способа являются: возможные неспецифические реакции при проведении исследований, в связи с тем, что О - антигены, после окраски и хранения могут спонтанно агглютинировать. [3].

Известен способ изготовления эритроцитарного антигена для диагностики пуллороза-тифа птиц, включающий выращивание биомассы, ресуспендирование биомассы ПАВ с добавлением NaCO₃ или NaOH с последующим экстрагированием при температуре 93-96°C в течение 60 мин, центрифугированием, фильтрацией для получения экстракта антиген-сенситина на слое экстракта антиген – сенситина на формализованные эритроциты, осветление сенсibiliзированных эритроцитов барана методом осаждения и разведения их до 10 % концентрации. Длительность процесса сокращения с 15 до 5 суток, исключая использование уксусной кислоты и этанола при повышении качества препарата. Недостатками способа являются: применение дорогостоящих компонентов – крови баранов для получения эритроцитов. [3].

Известен способ получения антигена для массовой прижизненной диагностики сальмонеллоносительства у кур, включающий подготовку и инактивацию инфекционности бактериальной массы, центрифугирование, окрашивание, проверку на стерильность и расфасовку. Выращивание культуры бактериальной массы *Salmonella enteritidis* и *Salmonella pullorum-gallinarum* раздельно на твердых питательных средах, причем после выращивания микробную культуру смывают физиологическим раствором, смывы объединяют и полученную микробную суспензию для инактивации помещают в рабочую камеру СВЧ печи в закрытом контейнере из радиопрозрачного материала, при этом инактивируют среду микроволновым излучением при частоте СВЧ поля 2450±50МГц, обработку суспензии проводят в прерывистом режиме воздействия, время обработки составляет 1-5 мин, а нагрев обрабатываемой среды допускают не выше 80°C, после чего среду концентрируют центрифугированием при 40000 об/мин в течении 15-30 мин, удаляя надосадочную жидкость, а полученный осадок промывают 0,85%-ным физиологическим раствором и окрашивают 2% -ным генциановым фиолетовым красителем в виде водного раствора и направляют на проверку и фасовку. Недостатками способа являются: способ является многооперационным; способ является дорогим, т.к. необходима лабораторная печь работающая при частоте свыше 2000 МГц. для инактивации бактериальной массы [4].

Известен способ получения цветного пуллорного антигена для диагностики пуллороза-тифа птиц. Антиген представляет собой гомогенную взвесь микробных клеток сальмонелл, инактивированных формалином и окрашенных кристаллвиолетом. Для получения антигена производственные штаммы выращивают в реакторе в бульоне Хоттингера до максимального накопления бактериальной массы, затем осаждают центрифугированием, разводят физиологическим раствором в соотношении 1:4, шуттелируют до получения гомогенной массы. Доводят до концентрации 100 млрд.

микробных тел в мл и окрашивают. Окрашенную массу инактивируют в термостате в течение суток, проверяют на стерильность и расфасовывают во флаконы по 20 мл.

Недостатками способа являются: 1. Длительный процесс производства. 2. Возможны неспецифические реакции при проведении исследований, в связи с тем, что Н - антигены, после окраски и хранения могут спонтанно агглютинировать. 3. Срок хранения непродолжителен (до 3 месяцев), что сдерживает его применение [5].

Анализ вышеприведенных способов- аналогов показал, что они все имеют следующие недостатки: длительный процесс производства; применение дорогостоящих компонентов – крови баранов для получения эритроцитов; непродолжительный (до 3 месяцев) срок хранения, что сдерживает его применение.

В связи с этим создание упрощенного способа изготовления пуллорозного антигена с увеличенным сроком хранения на основе известных способов является актуальным.

Сущность упрощенного способа получения цветного антигена для диагностики пуллороза - тифа птиц, заключается в том, что выращивали культуры бактериальной массы *Salmonella gallinarum pullorum*- сальмонелл, селекционированные в условиях лаборатории НИИВ, окрашивали раствором красителя, полученную суспензию инактивировали нагреванием или воздействием физических факторов.

Результаты исследований. Опыты проводили в Республике Узбекистан в условиях Касансайского птицеводческого хозяйства (мясо-молочного МЧЖ) Кашкадарьинской области и в условиях лаборатории НИИВ в 2016-2018 гг.

Приготавливали антиген по упрощенному способу получения цветного антигена для диагностики пуллороза - тифа птиц, для этого выращивали культуры бактериальной массы *Salmonella gallinarum pullorum*- сальмонелл, селекционированные в условиях лаборатории НИИВ, окрашивали раствором красителя, полученную суспензию инактивировали нагреванием или воздействием физических факторов.

По внешнему виду антиген представлял собой суспензию синего – фиолетового цвета, которую разливали в 10, 20, 50 мл стеклянные флаконы с плотно прилегающими резиновыми пробками и обкатывали металлическими колпачками и просматривали в проходящем свете. Антиген хранили в закрытых помещениях, в сухом темном месте при комнатной температуре, не ниже 4°C и не выше 10°C. При хранении в указанных условиях срок годности препарата составляет 12 месяцев. Перед применением флаконы с антигеном тщательно встряхивают для получения равномерной суспензии, а в холодное время года предварительно подогревают в водяной бане при температуре + 39-40°C.

Приготовленный антиген проверяли на стерильность, специфичность и активность.

Специфичность проверяли в кровякапельной реакции агглютинации (ККРА) на стекле с кровью пяти отрицательно и пяти положительно реагирующих на пуллороз-тиф кур и отдельно с каплей крови при температуре 37°C и непрерывно покачивании предметного стекла.

Активность каждой серии антигена проверяли в реакции агглютинации на предметном стекле с каплями свежей крови от пяти кур, положительно реагирующих на пуллороз - тиф, реакция наступила через 15 с.

Активность предлагаемого цветного антигена для диагностики пуллороза птиц и аналога- антигена приведена в таблице.

Таблица.

Активность цветного антигена для диагностики пуллороза птиц

Характеристика	Кол-во проб	Антигена для диагностики пуллороза-тифа птиц [4].			Цветной антиген		
		Полож.	Сомн.	Отр.	Полож.	Сомн	Отр.
Сыворотка крови ККРА	50						
		50	-	-	50	-	-

Результаты, приведенные в таблице показывают, что активность антигена на всех 50 пробах от птиц, экспериментально зараженных пуллорозом, проявилась как положительная,

не уступая по активности 50 положительным пробам при применении цветного антигена по прототипу Российского производства.

Были проведены производственные (комиссионные) испытания по Республике Узбекистан. Для исследования в реакции брали 2000 проб из разных хозяйств РУЗ, благополучных по пуллорозу и имеющих эпизоотическую ситуацию по пуллорозу. Результаты показали, что предлагаемый цветной антиген может быть применен в ветеринарной практике в качестве способа выявления заражения пуллорозом птиц на фермах. Способ получения цветного антигена для диагностики пуллороза - тифа птиц имеет низкую себестоимость, за счет использования местных компонентов, снижает время его приготовления за счет сокращения операций, полученный антиген является стерильным, чистым, активным и специфичным.

Срок годности полученного антигена 1 год со дня приготовления при условии хранения его в сухом темном месте при температуре не выше 10°C. Антиген, подвергшийся замораживанию, для применения непригоден. Ежегодная потребность РУЗ в изготовленном цветном антигене находится в пределах 500 л при расходе 0,1 мл на 1 пробу для однократного исследования. В связи с чем, производство отечественного антигена для проверки позволит решить данную социальную и экономическую проблему заболевания в Узбекистане и повысить эффективность противопуллорозных мероприятий в Республике.

Выводы: 1. Анализ способов - аналогов показал, что все они имеют следующие недостатки: длительный процесс производства; применение дорогостоящих компонентов – крови баранов для получения эритроцитов; непродолжительный (до 3 месяцев) срок хранения.

2. Производство отечественного антигена для диагностики пуллороза - тифа птиц позволит повысить эффективность противопуллорозных мероприятий в Республике Узбекистан, повысить воспроизводительную способность птиц и продуктивность птицеводства.

Список использованной литературы

- 1.(Ветеринарные препараты. Справочник под редакцией Д.Ф.Осидзе., М. Колос, 1981 г., с. 230-231).
- 2.(Киржаев Ф.С., Бурмистрова Т.И. «Способ получения антигена для диагностики пуллороза – тифа птиц», Авторское свидетельство № 594173, 1978г., выдан патент на оставшийся срок в 1997г., новый патентообладатель ВНИИП .
- 3.(Патент RU 2085949, 1996 г.).
- 4.(Патент RU 2070055, 1996 г.).
- 5.(Ветеринарные препараты. Справочник под редакцией Д.Ф. Осидзе.М.Колос, 1981 г., с. 231-232.)

