

Караев Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И. Т. ТРУБИЛИНА»

На правах рукописи



ТИЩЕНКО Александр Сергеевич

**ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ЭШЕРИХИОЗА ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ
И ЕГО ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

Диссертация на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор,
академик РАН Кощаев Андрей Георгиевич

Краснодар, 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Эшерихиоз телят и поросят в промышленном животноводстве.....	13
1.2 Антигенные и патогенные свойства возбудителя эшерихиоза телят и поросят	17
1.2.1 Факторы колонизации	17
1.2.2 Экзотоксины	29
1.3 Патотипы диареегенной <i>E. coli</i> и особенности механизма развития эшерихиоза.....	41
1.4 Эффективные подходы в профилактике эшерихиоза телят и поросят	50
1.4.1 Использование технологических приемов и кормовых добавок.....	50
1.4.2 Современная стратегия вакцинопрофилактики.....	63
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	80
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	108
3.1 Распространение эшерихиоза телят и поросят в Краснодарском крае ...	108
3.2 Характеристика циркулирующих на фермах Краснодарского края возбудителей эшерихиоза и других острых кишечных инфекций	115
3.2.1 Состав микроорганизмов, изолированных от новорожденных телят и поросят при острых кишечных заболеваниях, и их патогенный потенциал.....	116
3.2.2 Фимбриальные факторы адгезии у <i>E. coli</i> , изолированных от телят и поросят	126
3.2.3 Генетическая характеристика патогенных <i>E. coli</i> , выделенных от телят и поросят, и штаммов-кандидатов для производства колианатоксина	129
3.3 Получение, индикация экзотоксинов <i>E. coli</i> и их влияние на гематологический и иммунобиологический статус животных	138
3.4 Клинические и патоморфологические изменения у животных после введения им смеси токсинов <i>E. coli</i>	154

3.5 Получение и биологические свойства колианатоксина	163
3.5.1 Характеристика штаммов <i>E. coli</i> , отобранных в качестве кандидатов для получения колианатоксина	164
3.5.2 Получение колианатоксина	167
3.5.3 Влияние колианатоксина на гематологические показатели, фагоцитарную и микробицидную активность нейтрофильных гранулоцитов	175
3.6 Повышение иммуногенных свойств колианатоксина	191
3.6.1 Влияние различных адъювантов на иммуногенные свойства колианатоксина	191
3.6.2 Влияние адъювантов на протективные свойства колианатоксина	196
3.6.3 Гуморальный иммунный ответ у супоросных свиноматок и стельных коров, иммунизированных колианатоксином с адъювантами	200
3.7 Повышение иммуногенности колианатоксина с помощью адъювантных композиций	211
3.7.1 Разработка иммунобиологического препарата на основе колианатоксина, бактериального липополисахарида и полиакриловой кислоты, его иммуногенные свойства и профилактическая эффективность	212
3.7.2 Разработка иммунобиологического препарата на основе колианатоксина и минерально-масляного адъюванта, его иммуногенность и профилактическая эффективность	225
3.8 Профилактика кишечных инфекций телят и поросят с использованием ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции	238
3.8.1 Разработка ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят	239

3.8.2 Иммуногенная активность и профилактическая эффективность ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции телят и поросят	243
3.9 Экономическая эффективность применения колианатоксина и ассоциированной вакцины крупному рогатому скоту и свиньям	252
4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	273
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	296
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	302
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	304
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	364

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Несмотря на постоянное совершенствование технологий содержания крупного рогатого скота и свиней, позволяющих повысить продуктивность животных, тем не менее, вопросы ветеринарного благополучия поголовья этих животных во всем мире остаются актуальными. Наибольшая проблема связана с желудочно-кишечными болезнями телят и поросят. Особенно актуальна эта проблема для животноводческих комплексов промышленного типа и специализированных ферм с высокой концентрацией животных, которая способствует развитию различных возбудителей, взаимодействующих с макроорганизмом в ассоциации. Причина появления этой группы патологий у телят и поросят может быть самой различной, но чаще всего она связана с агрессивным поведением кишечной палочки (*Escherichia coli*), которая может выступать как в роли самостоятельного возбудителя, так и в виде осложняющего фактора [28; 57; 129; 181; 294; 480].

Кишечная палочка постоянно обитает в кишечном тракте всех животных, включая человека, в связи с чем, собственно, и получила свое название. Что касается агрессии, то, как оказалось, наряду с нормальными, т. е. симбиотическими формами этой бактерии, существуют болезнетворные (агрессивные, патогенные), обуславливающие развитие различных патологий и не обязательно связанные с поражением кишечника, например, таких как отечная болезнь у поросят, сепсис у новорожденных, целлюлит у бройлеров, пиелонефрит у кошек или мастит у коров и др. В связи с этим патогенную *E. coli* стали подразделять на кишечную, или диареогенную, и внекишечную, обуславливающую патологии, не сопровождающиеся диареей [38; 53; 128; 221; 287; 378].

Несмотря на то, что этиологическая роль *E. coli* в развитии массовых поносов у животных доказана уже более чем 150 лет тому назад, тем не менее, вопрос о том, что является триггером «плохого поведения» бактерии, остается нераскрытым. Зато с каждым годом расширяется список факторов патогенности, которые позволяют кишечной палочке, обладающих ими, активно развиваться,

защищаться и агрессивно вести себя в организме хозяина. В связи с этим, возбудителя эшерихиоза следует рассматривать как опасного болезнетворного агента, способного поражать широкий круг биологических объектов и наносить существенный экономический и морально-психологический ущерб [6; 159; 186; 241; 234; 298; 310; 335].

Профилактика эшерихиоза, как любого другого инфекционного заболевания, должна быть комплексной и включать в себя проведение неспецифических (общих) и специфических (специальных) мероприятий. Если в основе общих мероприятий лежит обеспечение физиологически полноценного развития плода, создание оптимальных условий кормления и содержания матери и приплода, препятствие накопления и распространения возбудителя в окружающей среде, то специфические мероприятия направлены на формирование пассивного и активного искусственно-приобретенного иммунитета. Особое внимание необходимо уделять профилактическим мероприятиям с использованием биологических и фармакологических средств, в том числе пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, органических кислот, фитобиотиков, иммуномодуляторов, адаптогенов, бактериофагов, вакцин, сывороток и иммуноглобулинов [50; 65; 143; 170; 172; 188; 375; 387].

Диареегенные кишечные палочки обладают большим разнообразием факторов вирулентности, за счет которых они реализуют свой патогенный потенциал в организме у животных. При этом продукция экзотоксинов является одним из важнейших факторов, отвечающих за патогенность эшерихий. Токсигенный потенциал *E. coli* связан с выработкой термолабильных (LT), термостабильных (ST), субтилазных (SubAB5), шигаподобных (STX), порообразующих (RTX), цитолетальных (Clt), цитонекротических (CNF) энтеротоксинов и различных типов гемолизинов. В связи с этим, изучение биологических свойств экзотоксинов, их влияние на развитие эшерихиозной инфекции у телят и поросят и разработка биопрепаратов на их основе представляется актуальным направлением для ветеринарной науки и практики [32; 61; 130; 148; 163; 187; 411; 424].

Степень разработанности темы. Вопросами изучения эшерихиозной инфекции у телят и поросят и разработками биологических препаратов для профилактики занимались разные ученые: этиологическими и патогенетическими аспектами эшерихиоза – А. С. Компанченко (2005), Н. В. Коткова (2007), В. Н. Псиола (2007), А. В. Моторыгин (2011), С. В. Бурлаков (2011), Н. Н. Карцев (2017), М. А. Шаймухаметов (2019), А. Г. Глотов, Т. И. Глотова (2020); вопросами иммунитета и профилактики эшерихиоза у телят и поросят – М. К. Пирожков (2002), Н. В. Чулков (2004), Я. М. Караев (2008), Ю. В. Нешумаева (2013), К. В. Татарников (2014), Д. А. Евглевский (2015), Н. В. Васильев (2017), Р. А. Сетдеков (2015), Р. Ф. Сайфутдинов (2018), В. И. Терехов (2020), Э. А. Светоч (2020), А. Г. Кошаев (2022), А. А. Шевченко (2023).

Диссертационная работа является частью тематического плана НИОКР, утвержденного Ученым советом ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» на 2011–2015 гг. (номер госрегистрации 01201153629), на 2016–2020 гг. (номер госрегистрации АААА-А16-116021110067-4) и на 2021–2025 гг. (номер госрегистрации 121032300041-1).

Цель и задачи исследования. Целью работы является изучение этиопатогенетических аспектов эшерихиозной инфекции у телят и поросят и разработка для ее вакцинопрофилактики биологических препаратов на основе токсоидных компонентов кишечной палочки.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

- провести мониторинг эпизоотической обстановки по эшерихиозу телят и поросят на территории Краснодарского края;
- исследовать состав микроорганизмов, изолированных от новорожденных телят и поросят при острых кишечных заболеваниях и определить их патогенный потенциал;
- оценить генетическое разнообразие токсигенных свойств кишечных палочек, выделенных от больных эшерихиозом телят и поросят;
- изучить влияние экзотоксинов эшерихий на гематологические параметры, уровень цитокинов в сыворотке крови, клиническую и патогистологиче-

скую картину внутренних органов и систем у различных лабораторных животных при экспериментальном заражении;

- изучить показатели крови, функциональную активность фагоцитарной и микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов, изменяющихся под воздействием инаktivированных токсинов кишечной палочки;

- оценить влияние инаktivированных экзотоксинов *E. coli* в сочетании с адъювантами на динамику образования и накопления антитоксических антител у лабораторных и сельскохозяйственных животных;

- определить иммунобиологические свойства биопрепаратов на основе токсидных компонентов кишечной палочки для профилактики эшерихиоза и острых кишечных инфекций телят и поросят;

- рассчитать экономическую эффективность применения разработанных препаратов у крупного рогатого скота и свиней.

Научная новизна. Впервые выделены, изучены и депонированы токсигенные штаммы кишечной палочки, обладающие мультифакторной патогенностью. Определено генетическое разнообразие токсигенных штаммов кишечной палочки среди телят и поросят. Изучено влияние экзотоксинов кишечной палочки на патогенетические аспекты эшерихиозной инфекции. Оценено влияние инаktivированных токсинов кишечной палочки на гематологические параметры, фагоцитарное звено иммунитета, активность микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов и их функциональную активность, гуморальные и клеточные медиаторы, активирующиеся под влиянием антигенной нагрузки в виде экзотоксинов кишечной палочки. Разработаны отечественные биопрепараты на основе токсидных компонентов кишечной палочки в сочетании с адъювантами и определены их иммуногенные свойства. Установлена профилактическая и экономическая эффективность биопрепаратов на основе токсидных компонентов кишечной палочки в промышленном скотоводстве и свиноводстве.

Научная новизна подтверждена 14 патентами РФ на изобретение (№ 2429012 C1; № 2432174 C1; № 2449290 C2; № 2649831 C1; № 2650604 C1;

№ 2650628 С1; № 2753410 С2; № 2764600 С1; № 2766249 С1; № 2766549 С1; № 2806810 С1; № 2813752 С1; № 2813771 С1; № 2814593 С1).

Теоретическая и практическая значимость работы. При проведении молекулярно-генетических и микробиологических исследований получены новые данные по маркерам патогенности токсигенных кишечных палочек, выделенных от телят и поросят. Определено влияние экзотоксинов кишечной палочки на механизмы развития эшерихиозной инфекции. Изучено влияние инактивированных форм кишечной палочки на факторы врожденного и приобретенного иммунитета у животных. Теоретически обосновано и практически подтверждено влияние адъювантов различной природы на иммуногенные свойства инактивированных экзометаболитов кишечной палочки. Были разработаны опытные образцы биопрепаратов на основе экзотоксинов кишечной палочки в сочетании с адъювантами для профилактики эшерихиоза и определены оптимальные схемы иммунизации крупного рогатого скота и свиней, позволяющие воздействовать на механизмы иммунитета у подопытных животных.

Разработаны три инструкции по ветеринарному применению: колианатоксина с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой в качестве адъювантов; колианатоксина с минерально-масляным адъювантом; ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебную и научно-исследовательскую работу девяти аграрных вузов России: Кубанский ГАУ, Ставропольский ГАУ, Чувашский ГАУ, Волгоградский ГАУ, Уральский ГАУ, Оренбургский ГАУ, Башкирский ГАУ, Нижегородский ГАУ, ГАУ Северного Зауралья.

Результаты научных исследований были внедрены в скотоводческих и свиноводческих хозяйствах Краснодарского края: УОХ «Кубань» г. Краснодара, НПО «Кореновское» (филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна имени П. П. Лукьяненко») Кореновского района, АО «Приазовское» Славянского района, что подтверждается 15 актами внедрения. Подготовлены методические реко-

мендации «Разработка и применение иммунобиологических препаратов на основе колианатоксина и адъювантных композиций» и «Профилактика смешанных острых кишечных инфекций телят и поросят», одобренные Ученым советом ФГБНУ «Северо-Кавказский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ ФРАНЦ» (протокол № 8 от 13 августа 2024 г.).

Научно-исследовательская работа также выполнялась в рамках реализации проекта НИР по заказу Минсельхоза России в 2019 г. – «Исследование механизмов активации врожденного иммунитета под влиянием инактивированных токсинов кишечной палочки» (грант РФФИ и Администрации Краснодарского края № 19-416-233007 (конкурс p_мол_a), регистрационный № НИОКТР АААА-А19-119051490179-1).

Методология и методы исследований. За методологическую основу при выполнении исследований брали научные труды отечественных и зарубежных ученых по теме диссертационной работы в области ветеринарии, биотехнологии, токсикологии и фармакологии вакцинных препаратов для скотоводства и свиноводства. При выполнении научных исследований использовались микробиологические, молекулярно-генетические, фармакологические, токсикологические, физиологические, экономические и статистические методы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Распространение и характеристика циркулирующих на фермах Краснодарского края возбудителей эшерихиоза и других острых кишечных инфекций.
2. Взаимосвязь генетических, адгезивных и токсигенных свойств *E. coli*, изолированных от телят и поросят.
3. Влияние экзотоксинов *E. coli* на гематологический и иммунобиологический статус лабораторных животных, а также клинические и гистопатологические изменения при экспериментальной эшерихиозной инфекции.
4. Влияние колианатоксина на гематологический статус, на фагоцитарную и микробицидную активность нейтрофильных гранулоцитов.
5. Изучение иммуногенных свойств колианатоксина, изменяющихся при помощи адъювантов.

6. Иммунобиологические свойства препаратов на основе колианатоксина в сочетании с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой и колианатоксина с минерально-масляным адъювантом.

7. Влияние ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции на иммунный статус телят и поросят.

8. Экономическая эффективность применения препаратов у крупного рогатого скота и свиней.

Степень достоверности полученных результатов подтверждается использованием большого количества лабораторных и сельскохозяйственных животных, подбором пар-аналогов по возрасту, породе и живой массе контрольных и опытных групп, значительным объемом микробиологических, генетических, гематологических, иммунологических и токсикологических методов исследования. Для экспериментальных работ использовано верифицированное оборудование, позволяющее получать воспроизводимые результаты. Применены современные методы сбора и обработки исходной информации, в том числе с применением методов математической статистики и экономического анализа.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы были доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научных конференциях ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ (Краснодар, 2017–2024); на международных научно-практических конференциях (Екатеринбург, 2010; Краснодар, 2011, 2019, 2024; Красноярск, 2021, 2023; Уссурийск, 2021; Санкт-Петербург, 2023; Karshi, 2023, 2024); на XXVII Международной научно-производственной конференции (Майский, 2023); всероссийских (национальных) конференциях (Краснодар, 2016, 2019, 2021; пос. Персиановский, 2019; Воронеж, 2019; Брянск, 2020).

Материалы диссертационной работы стали базовыми в реализации курсных проектов, которые были отмечены дипломом и золотой медалью на выставке «Агрорусь – 2023», дипломом и серебряной медалью на XXV Российской агропромышленной выставке «Золотая осень 2023», дипломом и золотой медалью на XXVII Московском международном Салоне изобретений и инновационных технологий «Архимед 2024».

Публикации результатов исследований. По материалам диссертационной работы опубликовано 76 научных работ, в том числе 24 – в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 6 – в международной базе данных Scopus. Изданы две методические рекомендации; две монографии. Получено 14 патентов РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, заключение, список сокращений, список использованной литературы и приложения. Работа представлена на 420 страницах машинописного текста, содержит 63 таблицы, 58 рисунков, а также включает 50 приложений. Список использованной литературы содержит 485 источников, из которых 240 принадлежат иностранным авторам.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эшерихиоз телят и поросят в промышленном животноводстве

Эшерихиоз (колибактериоз) телят и поросят является одной из актуальных и проблемных патологий для животноводческих ферм во всем мире [15; 17; 36; 39; 56; 88; 216; 290; 294; 466; 481; 482].

В Российской Федерации, по сведениям Россельхознадзора, колибактериоз по числу неблагополучных пунктов и количеству заболевших ежегодно входит в пятерку наиболее распространенных инфекционных болезней рогатого скота, свиней и птицы [151; 181].

Исследования отечественных ученых, проведенные в различные временные диапазоны, показали, что телята и поросята достаточно часто поражаются эшерихиозом, но не всегда все случаи болезни регистрируются. В ходе многочисленных исследований с использованием ПЦР-диагностики было установлено, что ведущую роль в развитии диарей у поросят первых дней жизни в хозяйствах Московской, Нижегородской, Владимирской, Ярославской, Новгородской, Оренбургской и Кемеровской областей играют энтеротоксигенные эшерихии, которые обнаруживались в патологическом материале в 90 % случаях [66; 157; 159; 181].

Аналитические исследования, проведенные группой отечественных ученых во главе с Т. З. Байбиковым, показали, что в России в среднем ежегодно количество неблагополучных по эшерихиозу поросят пунктов составляет 3688, в которых заболевает 144399 и погибает 43721 животных [181].

А. Г. Шахов с группой сотрудников [235] при исследовании патологического материала от больных и павших поросят-сосунов из 187 хозяйств Воронежской, Липецкой, Тамбовской, Волгоградской, Курской, Орловской, Тульской, Белгородской, Псковской и Самарской областей диагностировал колибактериоз в 23 % случаях.

Также есть сообщения, что колибактериоз поросят является одной из серьезнейших проблем свиноводства Свердловской области. По причине инфекции от рождения до отъема погибает 19,1 % приплода, причем до 80 % падежа приходится на первую неделю жизни [167; 181].

Глубокая проработка эпизоотической ситуации по колибактериозу поросят за период с 1990 по 2013 гг. в Краснодарском крае была осуществлена А. В. Скориковым с соавторами [150, 169]. Он показал, что, несмотря на значительное снижение численности поголовья свиней в связи с имевшей место в 2008–2013 гг. на территории края африканской чумы, колибактериоз продолжал создавать проблемы для отрасли, хотя количество зарегистрированных случаев болезни резко сократилось. В среднем ежегодно колибактериоз регистрировался на 42 фермах, на которых заболело 4103 (0,24 % от приплода) и пало – 1258 (0,08 % от приплода) животных. Наиболее неблагополучными по колибактериозу за рассматриваемый период времени были 1998 и 1999 г., когда количество неблагополучных пунктов достигало 116 и 144, в которых заболело 7240 и 8299 гол., а пало 2084 и 2058 гол., соответственно. Характерной особенностью проявления колибактериоза поросят в Краснодарском крае являлось наличие периодических вспышек, которых с 1990 по 2013 г. было шесть. Вспышки болезни в регионе возникали через каждые 2–5 лет (в среднем через 3,4 года). Средний уровень инцидентности колибактериоза поросят за период с 1990 по 2013 гг. составил 218,2 на 100 тыс. гол., смертности – 68,7 на 100 тыс. гол., летальности – 31,9 %, очаговости – 122,7 гол./очаг. Величина этих показателей указывает не только о постоянно сохраняющейся напряженности эпизоотической ситуации, но и высокой интенсивности эпизоотического процесса.

При изучении эпизоотической ситуации по колибактериозу телят в Краснодарском крае В. И. Терехов [184] установил, что она достаточно напряженная, при этом эпизоотический процесс характеризуется стационарностью, энзоотичностью, периодичностью, сезонностью и выраженным возрастным характером. Используемая в крае, в качестве основного приема профилактики, вакцинация, не влияет на течение эпизоотического процесса, что требует глубокого пере-

смотрa стратегии контроля над колибактериозом. Анализ материалов ветеринарной отчетности государственного управления ветеринарии Краснодарского края с 1996 по 2015 гг. показал, что в среднем инцидентность колибактериоза среди телят на фермах края составила 433,4 случаев на 100 тыс. гол., смертность – 122,9 случаев на 100 тыс. гол., летальность – 36,9 % и очаговость – 32,3 гол./очаг.

А. С. Батомункуев с соавторами [245] провели анализ заболеваемости эшерихиозом сельскохозяйственных животных на территории Иркутской области за 2004–2017 гг. и установили, что эшерихиоз регистрировался среди всех видов продуктивных животных: крупного и мелкого рогатого скота, свиней. Самый высокий ($p < 0,01$) показатель заболеваемости отмечен у крупного рогатого скота – $18,50 \pm 1,90$; самый низкий – у мелкого рогатого скота – $1,20 \pm 0,30$; показатель заболеваемости свиней составил $7,60 \pm 1,20$.

А. С. Компанченко [59], А. А. Шевченко с А. В. Торопыно [236] при изучении эпизоотической ситуации по эшерихиозу в Ростовской области в разные годы установили, что данная патология среди сельскохозяйственных животных составила у свиней 71,93 %; крупного рогатого скота – 20,61 % и регистрировалась в 17 районах области.

В Ставропольском крае по данным за период с 2003 по 2013 гг. выявлен 31 неблагополучный пункт по эшерихиозу, что составило 2,7 % от общего числа неблагополучных по инфекционным заболеваниям пунктов. Заболело 162 гол. крупного рогатого скота, из них пало 79 гол., что составило 48,7 % [17].

Ю. В. Ломова и И. А. Кондакова [74] отмечают, что на территории Рязанской области с 2010 по 2014 гг. эшерихиоз молодняка крупного рогатого скота регистрировался регулярно, преимущественно в зимне-весенний период. За этот период официально было зарегистрировано 952 случая эшерихиоза среди новорожденных телят в 21 районе (84 %).

М. А. Шаймухаметов и соавторы [233], проведя исследования по нозологической структуре болезней телят в Республике Башкостан, установили, что удельный вес эшерихиоза по неблагополучию и количеству заболевших животных среди других болезней составляет 34,07 % и 31,48 % соответственно.

Аналогичная ситуация по колиинфекции телят и поросят отмечается и у наших ближайших соседей – Украине и Белоруссии. Болезнь характеризуется периодическими вспышками даже в тех хозяйствах, где свиноматки и животные регулярно иммунизируются коммерческими вакцинами против колибактериоза [75; 181].

А. И. Пукшлис с соавторами [147] в своих исследованиях показывает, что эшерихиоз поросят в хозяйствах Республики Беларусь занимает первое место среди желудочно-кишечной патологии. На его долю приходится 35–45 % всех выявленных неблагополучных пунктов по инфекционным болезням свиней. При этом этиологическая структура колидиарей чаще всего остается нерасшифрованной, поскольку около 20 % изолированных эшерихий не типировались О-колисыворотками Армавирской биофабрики. Из числа изолированных культур 35 % содержали специфические адгезины, что позволило авторам причислить их к патогенным вариантам, обуславливающим развитие диарей у новорожденных поросят.

Kolenda с соавторами [358] провел системный обзор и мета-анализ распространения и роли патогенной *E. coli* в развитии диареи у телят в 27 странах. В ходе данной работы были проанализированы результаты 106 опубликованных исследований, проведенных за период с 1951 по 2013 гг. Авторы показали, что несмотря на высокий технологический уровень скотоводства в таких странах как США, Германия, Польша, Австрия, Италия, Англия, Франция, Япония, Южная Корея, патогенные кишечные палочки имеют широкое распространение среди молочного и мясного скота и являются одной из наиболее распространенных причин диареи и септицемии у телят [292; 334; 395].

Таким образом, из приведенного материала видно, что эшерихиоз новорожденных телят и поросят достаточно широко распространен и у нас в стране и за рубежом и наносит существенный экономический ущерб, так как летальность при этом заболевании составляет от 20 до 50 %. Болезнь протекает по типу энзоотии в различных климатических условиях и во все времена года, а на предприятиях промышленного типа может приобретать стационарный характер, широко распространено бактерионосительство.

1.2 Антигенные и патогенные свойства возбудителя эшерихиоза телят и поросят

1.2.1 Факторы колонизации

Считается, что первым этапом проявления патогенных свойств диареегенных *E. coli* является колонизация ими эпителиальных клеток различных отделов кишечного тракта. Для реализации этого первичного условия агрессии в отношении хозяина и конкуренции за эпитопы заселения патогенные *E. coli* экспрессируют на своей поверхности специфические факторы адгезии, которые позволяют им зондировать рецепторы эукариотических клеток, с которыми обычно не справляются комменсальные *E. coli* [271; 349]. Прикрепление позволяет патогенной *E. coli* взаимодействовать с мембраной клетки-хозяина и тем самым обеспечивать оптимальную доставку их цитотонических или цитотоксических токсинов вблизи мембраносвязанных рецепторов. Бактериальная адгезия к клеткам-мишеням может быть более, чем просто прикрепление, поскольку благодаря специфичному распознаванию молекул расположенных на мембране эукариотической клетки, запускается механизм активации сигнальных путей, позволяющий бактерии манипулировать функциями клетки-хозяина во время развития патологического процесса [285; 295; 356]. Для инвазивных *E. coli* прикрепление инициирует упорядоченную серию контролируемых сигналами событий, которые приводят к перестройкам клеточной мембраны хозяина, необходимые для достижения проникновения бактериальных клеток с последующим развитием сложного внутриклеточного существования [181; 255; 261; 336; 371; 378; 385; 454; 463].

Первичное прикрепление и колонизация диареегенных *E. coli* эпителиальных клеток осуществляется с помощью различных клеточных фимбриальных волосоподобных структур (фимбрии, пили, пилусы) и афимбриальных белков, обеспечивающих более тесный контакт бактерии с клеткой-хозяином. Взаимодействие антигенов адгезии кишечной палочки с эпителиальными и другими клетками макроорганизма осуществляется через соответствующие рецепторы,

строение и наличие которых отличается не только у разных видов животных, но и разного возраста одного вида. При отсутствии таких рецепторов животные не болевают эшерихиозом [158; 171; 183; 385].

Фимбриальные факторы адгезии. Прикрепление *E. coli* к поверхности клетки-хозяина чаще всего обеспечивается наличием у нее таких поверхностных клеточных структур как фимбрии или пили, которые у различных штаммов могут различаться по морфологическим, биологическим и антигенным свойствам. Установлено, что фимбрии не только способствуют прикреплению к различным поверхностям, но также передают сигналы, которые позволяют бактериальной клетке откликнуться на это прикрепление через восприятие или ощущение поверхности [12; 371; 406].

В настоящее время у бактерий выявлено значительное количество разновидностей фимбрий, различающихся как по морфологии, так и антигенно, причем один вид может экспрессировать несколько типов пилей. Так, у *E. coli* выявлены фимбрии 1, 2, 3 и 4 типов, которые обозначаются аббревиатурой CFA (*colonization factor antigen*) или CS (*coli surface antigen*). CFA по морфологии подразделяются на фимбриальные, фибрилярные, спиральные, сетчатые и пучкообразующие [181; 290; 351; 385; 387; 391; 408].

Установлено, что CFA, продуцируемые *E. coli*, участвующими в заражении человека, отличаются от штаммов заражающих животных, поэтому фимбриальные факторы колонизации *E. coli*, изолированной от человека, обозначаются как CS (*coli surface*), а от животных – F (*fimbria*) [133; 158; 171; 387; 391].

Между тем появляются сообщения об обнаружении новых фимбриальных факторов колонизации, рецепторы которых обнаруживаются на эпителиальных клетках кишечника как у человека, так и животных. R. M. Vidal с D. A. Montero и F. Del Canto [439] сообщают, что у штамма энтеротоксигенной *E. coli* 1766a серогруппы O4 открыт новый поверхностный антиген названный CS23, кодируемый генами плазмидной ДНК, которые имеют значительную идентичность с генами, необходимыми для сборки фимбрий K88. Также было установлено, что фимбриальные факторы колонизации CS12, CS18, CS20 и CS30 идентифицированные

у энтеротоксигенной кишечной палочки, выделенной от человека, связаны с адгезином F6 (987P), который экспрессируется аналогичным патотипом *E. coli*, инфицирующим новорожденных поросят и телят [348].

Фимбрии типа 1 (CFA/I) имеются не только у патогенных, но и у комменсальных эшерихий, а также у других бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [290]. У изолятов *E. coli*, выделенных от больных эшерихиозом телят и поросят, CFA/I в среднем могут обнаруживаться в 25,9–34,7 % случаев одни и в 9,6–16,1 % с CFA/II [38; 385].

CFA/I представляет собой полиморфную структуру длиной от 0,2 до 2,0 мкм и диаметром 3,4–8 нм и могут быть визуализированы либо как спиральная нить, либо как развернутая и вытянутая более тонкая нить, чем и объясняется значительный разбег в диаметре этой клеточной структуры. Считается, что такая пластичность лежит в способности CFA/I противодействовать перистальтическим движениям кишечника. На одной клетке может быть 50–400 и более фимбрий типа 1 [85; 455].

CFA/I также участвуют в формировании биопленки и создании внутриклеточных бактериальных колоний (IBC) [355; 475]. Кроме того, было установлено, что CFA/I также опосредуют адгезию *E. coli* к макрофагам и обеспечивают их выживание будучи поглощенными внутри фагоцитов. Данное свойство позволяет патогенной *E. coli* длительно персистировать в организме и защищаться от действия внеклеточных антибиотиков [474].

Фимбрии типа 2 (CFA/II), или маннозаустойчивые фимбрии, встречаются преимущественно у энтеротоксигенных *E. coli* и являются специфическими, т. е. между ними и специфичностью кишечной палочки в отношении тех или иных биологических объектов существует определенная связь. Например, *E. coli* с адгезивными антигенами K88 и 987P чаще выделяют от поросят, K99 и F41 – от телят [388].

Первые специфические фимбрии, выявленные у изолятов, полученных от больных поросят и телят, обозначали как K88 и K99, так как полагали, что это разновидность капсульных антигенов. Однако благодаря электронной

микроскопии была установлена нитевидная структура этих антигенов и способность их к гемагглютинации, в связи с чем, они были переименованы в F4 и F5. На примере F4 впервые была показана значимость фимбрий в патогенезе диареи у новорожденных поросят [294].

По морфологии CFA/II сходны с фимбриями 1-го типа, но имеют меньший диаметр, в большинстве случаев он находится в диапазоне 2–4 нм. Однако есть и достаточно толстые варианты, у которых диаметр доходит до 7 нм, примером могут служить фимбрии F6 (987P) и F18 [206; 391]. Молекулярная масса белков специфических фимбрий составляет 14,5–26,2 кДа.

На одной и той же бактериальной клетке могут присутствовать несколько типов фимбриальных адгезинов, которые можно даже визуализировать при микроскопии. Имеются сведения о наличии у 5–10 % изолятов *E. coli* одновременно двух и более специфических адгезинов, например, K99 и F41; K88 и 987F; K99 и 987P; F41 и F18; K88 и A20; K88 и F18ac; K88 и F4; или даже K88, F18ac и F41 [61; 146; 171; 310; 359; 385] или специфических и неспецифических фимбрий [38; 181].

Высказывается предположение, что отсутствие специфических фимбрий у энтеротоксигенных *E. coli* может свидетельствовать как об их действительно отсутствии, так и их временной потере или наличии неизвестных, неопределяемых имеющимися антисыворотками, фимбрий. По этому поводу сообщается, что при фенотипическом скрининге у 30–50 % изолятов не удастся установить вид фимбрий, тогда как методом генотипирования постоянно выявляются новые факторы колонизации [181; 251; 439].

F4 (K88) фимбрии чаще всего обнаруживаются у *E. coli*, обуславливающей диарею у новорожденных поросят и поросят после отъема. Данные фимбрии наиболее тонкие, их диаметр находится в пределах 2 нм. Исследованиями установлено, что эти фимбрии обладают различными антигенными и адгезивными свойствами, поэтому были разделены на три варианта: F4ab, F4ac, F4ad. Чаще всего диарею у новорожденных поросят вызывают *E. coli* F4ab, F4ad, тогда как у поросят-отъемышей – *E. coli* F4ac [38; 385].

F5 (K99) фимбрии преимущественно обнаруживаются у изолятов *E. coli*, ответственных за развитие диареи у новорожденных телят, хотя могут быть определены и у изолятов, выделенных от поросят, ягнят, жеребят. Данные фимбрии имеют спиралевидную форму с диаметром нити в пределах 3–4 нм, обладают выраженной агглютинацией в отношении эритроцитов лошади и овцы, но не агглютинируют эритроциты морской свинки. Продукция данного фимбриального адгезина регулируется плазмидной ДНК [294; 385]. Интенсивность связывания F5 с рецепторами энтероцитов зависит от возраста теленка. Максимальное количество специфических рецепторов выявлено через 12 ч после рождения, а затем их количество постепенно уменьшается в течение последующих двух недель. В связи с этим *E. coli* F5 рассматривается в качестве основной причины неонатальной диареи у телят – именно он ответственен за развитие поноса у телят в первые четыре дня жизни, при этом телята старшего возраста или взрослый крупный рогатый скот устойчив к ней [181]. *E. coli* F5 обнаруживают также у поносящих новорожденных поросят [183], однако было установлено, что у изолятов от поросят корреляция между адгезином F5 и синтезом термостабильного токсина менее выражена, чем у изолятов, выделенных от телят [38].

F6 (987P) впервые был обнаружен у изолятов *E. coli*, вызывающих диарею у новорожденных поросят. Поэтому считается, что *E. coli* 987P преимущественно обуславливает диарею у поросят и является для них специфичной [385]. Однако, как показали исследования В. И. Терехова с соавторами, данный тип кишечной палочки нередко выделяется и от телят с диареями [183]. Фимбрия состоит из трех субъединиц – основной FasA и двух малых – FasF и FasG, которые можно визуализировать как на кончике, так и вдоль фимбриального волоска. Минорная субъединица F6 FasG специфически связывается с белками гистона H1 свиньи. FasG также опосредует связывание F6 с рецептором гликолипида, сульфатидом кишечника свиней [181]. В дополнение к двум энтероадгезивным свойствам FasG, третий тип связывания F6 происходит между основной субъединицей FasA и гидроксилированным церамидом моногексозидом щеточной каймы поросят [395]. Также было установлено, что фимбрии F6 связываются с лактотриозилцерамидом

и лактотетраозилцерамидом, выделенными из кишечника 6-недельных свиней [413]. Экспрессируются ли эти рецепторы у новорожденных поросят, которые являются мишенями для F6-фимбрированных энтеротоксигенных эшерихий установлено не было.

F7 (F41) ассоциированы с *E. coli*, вызывающие развитие диареи у телят, но он встречается и у *E. coli*, изолированной от поросят и ягнят. Антиген F41 первоначально назывался анионным компонентом антигена K99, но позже было установлено, что F41 не входил в состав антигена K99, а является самостоятельным адгезином. Многие штаммы энтеротоксигенной кишечной палочки, у которых отсутствуют антигены K88, K99 или 987P, продуцируют F41 адгезин, который был охарактеризован как нитевидная фимбриальная структура диаметром 3,2 нм. Как и другие фимбрии, антиген F41 не экспрессируется, когда бактерии выращиваются при температуре 18 °C [181]. Контроль за продукцией F7 осуществляют гены *fim41*, локализованные на бактериальной хромосоме [385].

F17 фимбрии образуются патогенной кишечной палочкой, участвующей во вспышках диареи и септицемии у телят и ягнят. Несмотря на очевидную связь с вирулентностью, точная роль F17 в патогенности *E. coli* остается неизвестной. Сообщалось, что эти фимбрии связывают N-ацетил-D-глюкозамин (GLC-NAC)-содержащие рецепторы, присутствующие на эпителиальных клетках кишечника у крупного рогатого скота. Идентифицировано несколько вариантов двух субъединиц, которые генетически связаны с типичными факторами вирулентности штаммов *E. coli* патогенных для крупного рогатого скота. Исходя из этого, выделяют семейство фимбрий F17. На данный момент известно шесть вариантов основной субъединицы F17-A: F17a-A (FY антиген), F17b-A (Vir антиген), F17c-A (20K антиген) и F17d-A (F111), F17e-A, F17f-A и три варианта минорной субъединицы F17-G: F17-G1, F17-G2, F17-G3 [139; 142]. В тоже время сообщается об очень редкой распространенности *E. coli* F17e-A и F17-G3 среди здорового взрослого крупного рогатого скота [181].

F18 фимбрии объединены в семейство, которое включает два антигенных варианта: F18ab и F18ac. Фимбрии F18ab, ранее называемые F107, часто экспрессируются штаммами *E. coli*, продуцирующими шига-подобный токсин STX 2e и в основном обуславливают отёчную болезнь у поросят. Фимбрии F18ac, ранее известные как 2134P или CFA8813, экспрессируются штаммами *E. coli*, продуцирующими термостабильные энтеротоксины STa и STb, а иногда также STX 2e и вызывают у поросят постотъемную диарею [181; 385]. Фимбрии F18 представляют собой длинные гибкие нити диаметром не более 4,6 нм с зигзагообразным рисунком. Они связывают специфические рецепторы на эпителиальных клетках тонкой кишки поросят, количество которых повышается с увеличением их возраста в течение первых трех недель после рождения и поддерживается на высоком уровне еще в течение последующих 20 нед [264]. В настоящее время неизвестно, какие именно поверхностные структуры энтероцитов выступают в качестве рецепторов для F18ac, а вот для F18ab – это различные альфа(1,2)фукозилсодержащие гликоконъюгаты [294]. Фимбрия состоит из основной структурной субъединицы FedA и двух малых – FedE и FedF. Установлено, что именно FedF служит в качестве адгезивной субъединицы и играет центральную роль в связывании с рецепторами поросят. Кодирование фимбрии F18 осуществляется пятью генами (*fedA*, *fedB*, *fedC*, *fedE*, *fedF*), расположенными на плазмиде [421].

Фимбрии типа 3 (CFA/III) представляют собой адгезивные органеллы, обнаруженные у множества патогенных энтеробактерий, таких как *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Citrobacter* и *Escherichia*. *In vitro* было показано, что фимбрии играют роль в связывании с несколькими различными линиями эпителиальных клеток и белками внеклеточного матрикса. Кроме того, CFA/III ответственны за прикрепление и образование биопленок на биотических и абиотических поверхностях, в том числе разных типах клеток человека [181].

Фимбрии типа 4 (CFA/IV) у бактерий опосредуют различные биологические функции, включая адгезию, прыгающую подвижность на поверхности, формирование микроколоний и биопленки, а также поглощение ДНК. CFA/IV

у *Escherichia coli* представлены пучокформирующими пиями (Vfr) и длинными полярными фимбриями (longus, Lpf) [278].

Пучокформирующие пили (Vfr) впервые описаны в 1991 г. у энтеропатогенной *E. coli*. Исследования показали, что Vfr играют важную роль в прямом прикреплении клеток энтеропатогенной кишечной палочки к эпителиальным клеткам хозяина и затем уже формированием на ее поверхности микроколонии. Несмотря на то, что адгезин Vfr способствует прикреплению бактерий к эукариотическим клеткам, тем не менее, он не является абсолютно необходимым, чтобы вызвать болезнь у людей. Предполагается, что адгезин Vfr, вероятно, хозяиноспецифичен, так как ген *bfrA* в основном встречается у штаммов, выделенных от человека [421].

Длинные полярные фимбрии (longus, Lpf). Впервые эти фимбрии были описаны у *Salmonella enterica* серовара *typhimurium*. В последующем они были обнаружены и описаны у штаммов энтерогеморрагической *E. coli* человеческого и животного происхождения, при этом установлено, что существует два варианта Lpf – *lpf1* (локализован в острове патогенности O141) и *lpf2* (локализован в острове патогенности O154) [373].

При исследованиях на овцах, свиньях и поросятах-гнотобиотах было установлено, что Lpf могут специфически стимулировать адгезию к клеткам эпителия кишечника и взаимодействовать совместно с интимином, обеспечивая тканевой тропизм энтерогеморрагической *E. coli*. Предполагают, что *lpf1* обеспечивает первоначальное взаимодействие с внеклеточным матриксом, а в последующем в процесс колонизации включается *lpf2*. Основная точка взаимодействия – фолликуло-ассоциированный эпителий пейеровых бляшек. Поэтому при диареях, обусловленных эшерихиями, обладающими Lpf, поражения обнаруживают в подвздошной, слепой и середине толстой кишке [181].

В настоящее время установлены и другие фимбрии *E. coli* различных патотипов: F9, Pap, S, Sfr, HCP, AAF, ELF. Они достаточно часто обнаруживаются и у кишечных изолятов, это указывает на то, что они могут играть роль в колонизации

кишечника животных (включая поросят и телят) и людей, а, следовательно, обуславливать развитие диареи [385].

Нефимбриальные факторы адгезии. Помимо фимбриальных клеточных структур, адгезию патогенных *E. coli* к клеткам-хозяина обеспечивают различные внеклеточные белки, располагающиеся на внешней мембране бактериальной клетки (интимин, курли, Раа, Efa1, ToxB, Iha, AIDA, EhaA-D, Saa, AFA) и жгутики.

Интимин – белок наружной мембраны или EAF фактор энтеропатогенных *E. coli* (enteropathogenic *E. coli* adherence factor) с молекулярной массой 94–97 кДа (939 аминокислот), кодируемый геном *eae* [259]. Исследования показали, что при удалении гена, ответственного за продукцию интимина, кишечная палочка теряет свои адгезивные способности. Этот белок является важным фактором прикрепления и колонизации *E. coli* в кишечнике, как у поросят, так и у людей [181].

Белок интимин является основной афимбриальной структурой не только у энтеропатогенных, но и энтерогеморрагических кишечных палочек [373]. Для того, чтобы интимин смог осуществить прикрепление к мембране эукариотической клетки ему необходим помощник – белковый рецептор Tir (от англ. Translocated intimin receptor), который перемещается в эпителиоцит через филламент EspA – компонент системы секреции типа III (TTSS), а затем встраивается в мембрану клетки-хозяина и образует структуру в виде шпильки с N- и C-концами как в цитоплазме клетки, так и в центральном внеклеточном домене, связывающим интимин [355; 387]. Таким образом, EspA образует физический мост между бактерией и инфицированной поверхностью эукариотических клеток и необходим для транслокации EspB в инфицированные эпителиальные клетки, а также может способствовать адгезии бактерий [181].

Было установлено, что иммунная система способна распознавать интимин и вырабатывать противointиминные антитела. В свою очередь, это послужило толчком к мутационным изменениям в C-концевых участках интимина [477].

Многочисленные исследования подтвердили тот факт, что антителоопосредованная защита специфична для подтипа интимина [259], а вакцины на

основе интимина – эффективны при экспериментальном эшерихиозе у кроликов и крупного рогатого скота [477].

Curli (от англ. curl – локон, завиток) – тонкие агрегативные структуры, имеющие волнистую, локонообразную форму, синтезируемые многими штаммами *E. coli* [265].

Curli являются первичным адгезином энтерогеморрагической *E. coli* в отсутствие длиннополярных жгутиков (Lpf), основная их функция заключается в опосредованном взаимодействии бактерий с абиотическими поверхностями и защите патогена от антисептических химикатов. Наиболее важным является роль *curli* в адгезии энтерогеморрагической *E. coli* к листьям шпината и салата, что делает их особенно интересными при расследовании вспышек диареи или гемолитико-уремического синдрома у людей [319; 472].

Раа (поросенок-ассоциированное прикрепление и стирание). Этот адгезин впервые был обнаружен у штаммов энтеропатогенных *E. coli*, выделенных от больных поросят [415]. Исследования показали, что Раа участвует в механизме развития повреждения А/Е (прикрепления и стирания). При заражении поросят штаммом *E. coli* позитивным по *eae*, но негативным по *raa*, было установлено, что мутанты не вызывают поражения А/Е или вызывают менее тяжелые поражения, без развития диареи или с ее отсроченным развитием [264].

Efa1 (фактор прикрепления энтерогеморрагической *E. coli*). Этот адгезин был обнаружен у энтерогеморрагической *E. coli*. Локус *efal* имеет размер 9669 н.п. и расположен на острове патогенности O122 [181]. Локус *efal* прочно ассоциирован со штаммами энтерогеморрагической *E. coli* не-O157 и энтеропатогенной *E. coli* [264]. Исследования по моделированию диареи у телят в возрасте от 4 до 11 дней также показали, что на колонизацию кишечника штаммами энтерогеморрагической *E. coli* O5 и O111 влияет *efal* и несмотря на высокую гомологию между *lifA* и *efal*, мутанты с делецией в *lifA* осуществляют повреждение по типу прикрепление/стирание (А/Е) и локального прикрепления (LА) [442; 449].

ToxB был идентифицирован на плазмиде pO157 у штамма энтерогеморрагической *E. coli* O157 Sakai в 2001 г. Tozzoli с соавторами исследовали наличие

полной последовательности *toxВ* у штаммов энтерогеморрагической и энтеропатогенной *E. coli* в результате чего было установлено, что полная последовательность *toxВ* присутствовала у всех штаммов энтерогеморрагической *E. coli* O157, примерно у 50 % штаммов энтерогеморрагической *E. coli* O26, у нескольких штаммов энтерогеморрагической *E. coli* O118 и O123, у нескольких штаммов энтеропатогенной *E. coli* O26 и O86, но отсутствовала у O111 и O103. Причем ген *toxВ* обнаруживается в штаммах *E. coli*, выделенных как от человека, так и крупного рогатого скота [181].

ТохВ способствует прикреплению, а также стимулирует продукцию EspA, EspB (два белка-транслокатора) и транслоцированного интиминового рецептора (Tir). Кроме того, ТохВ влияет на экспрессию LEE, но не на колонизацию кишечника у овец и телят в отличие от Tir [308].

Iha адгезин (IrgA гомологичный адгезин) – белок внешней мембраны *E. coli* O157:H7, похожий на железо-регулируемый ген A (IrgA) у холерного вибриона. Масса данного белка составляет 67–78 кДа [465]. Ген *iha* имеется у штаммов энтеропатогенных, энтерогеморрагических и веротоксигенных *E. coli*, выделенных от человека, крупного рогатого скота и свиней [421].

У некоторых патотипов *E. coli*, кроме афимбрильных белков, существуют так называемые белки аутопереносчики, которые способствуют взаимодействию бактериальных клеток с клетками-хозяевами и способны секретироваться независимо от обычного механизма клеточной транслокации [373]. Аутопереносчики часто связаны с образованием и поддержанием биопленок и других признаков вирулентности у патогенов и связанных с ними комменсалов [357]. К аутопереносным белкам относят AIDA-I, EhaA-D, EspP, Saa, которые могут иметь определенную роль в развитии эшерихиоза у телят и поросят [257; 264; 411; 373; 383; 442].

Жгутики – клеточные структуры бактерий, обеспечивающие им подвижность. Однако бактериальный жгутик не является исключительно органеллой передвижения, его функционалитет универсален и включает способность прикрепляться к различным субстратам, способствовать образованию биопленок, функционировать как секреторная машина, которая может экспортировать белки, способству-

ющие различным биологическим процессам, и опосредовать воспаление как у растений, так и у животных [390]. Основным структурным компонентом жгутиковой нити является белок флагеллин (FliC), другим белком, открытым на кончике жгутика, является FliD (колпачок), который образует структуру необходимую для сборки жгутикового стержня и с помощью которой может осуществляться связывание бактерий с кончиками микроворсинок энтероцита [181].

Роль жгутика, как фактора адгезии у патогенных *E. coli*, была установлена при изучении гена *fliC* у штаммов энтеропатогенных *E. coli* O127:H6, O119:H6, O128:H2 и O127:H40 [162; 294]. Однако, как оказалось, жгутик важен для адгезии не только для энтеропатогенной *E. coli*, но и энтеротоксигенной *E. coli*, у которых он работает совместно с экзопротеиновым адгезином EtpA, захватывая и представляя его эукариотическим рецепторам [325]. Различия в содержании флагеллина у различных штаммов *E. coli* определяют их способность прилипать к определенным поверхностям. Например, *fliC* энтерогеморрагической кишечной палочки обеспечивает специфическое связывание с эпителием прямой кишки крупного рогатого скота и агглютинирует эритроциты кролика, тогда как *fliC* энтеропатогенной кишечной палочки связывается с коллагеном и в меньшей степени с ламинином и фибронектином [181]. Не только патогенные, но и пробиотические кишечные палочки обладают адгезивными жгутиками, которые важны для колонизации кишечника [390].

Исследования *in vitro* обнаружили четкую связь между жгутиками, адгезией и образованием биопленки. Жгутики вызывают активацию воспалительных реакций у хозяина посредством взаимодействия флагеллина со специфическими молекулами через различные сигнальные пути [390]. Эти результаты свидетельствуют о том, что флагеллин может играть важную роль в воспалительной реакции кишечника в период эшерихиозной инфекции.

Таким образом, представленный материал показывает, что диареегенная кишечная палочка обладает широким набором факторов колонизации, которые в разной степени способствуют ее адгезии не только с клетками кишечника животных и человека, но и поверхностью растений, а также с абиотическими

поверхностями. Кишечная палочка обладает сложной регуляторной системой, позволяющей секретировать те или иные факторы колонизации в зависимости от определенных условий и наличия соответствующих рецепторов. Нередко на поверхности бактериальной клетки могут одновременно экспрессироваться различные адгезины, не связанные с одним каким-то патотипом или хозяином и выполняющие не только адгезионные функции. Большое количество адгезинов являются общими для штаммов, циркулирующих как среди домашних животных, так и людей, что в значительной степени расширяет ареал распространения патогенных *E. coli*. В тоже время, имеющая место видоспецифичность некоторых из них может быть объяснена, по мнению Bardiau с соавторами, такими моментами как: «различием в последовательностях генов, кодирующих эти адгезины у штаммов, выделенных от человека и животных; вариациями экспрессии адгезинкодирующих генов и рецепторов этих адгезинов в зависимости от среды обитания, отдела кишечного тракта и возраста; отличием уровня метаболизма хозяина» [264].

1.2.2 Экзотоксины

Диареегенная *E. coli* обладает широким набором факторов патогенности, позволяющих ей противостоять защитным механизмам иммунной системы макроорганизма и оказывать на него болезнетворное действие [71; 290; 448]. Патогенность кишечной палочки связана с наличием у нее генов, кодирующих факторы вирулентности. Эти гены могут располагаться как на хромосомах, так и на плазмидах. К факторам патогенности *E. coli* в первую очередь относят адгезины, экзотоксины и эндотоксин [72; 221; 248]. При этом экзотоксины являются важнейшими факторами, определяющими вирулентные свойства *E. coli*, клиническую картину и тяжесть течения болезни. Кроме того, некоторые экзотоксины участвуют в адгезии и инвазии клетки, вызывают воспалительные реакции и апоптоз клеток [5; 139; 294; 313; 355; 387].

Экзотоксины. Среди экзотоксинов *E. coli* наиболее изученными являются термолабильный (LT) и термостабильный (ST) токсины, термостабильный токсин 1 энтероадгезивной кишечной палочки (EAST1), шигаподобный токсин (STX), цикломодулины (колибактин, CNF 1, CDT, SubAB) и пороформирующие токсины (колицины, гемолизин E и α -гемолизин) [294; 296; 320; 326; 327; 342; 387; 389; 402; 441].

Было установлено, что от одного животного могут быть выделены изоляты кишечной палочки различных патотипов или же изоляты, обладающие сразу несколькими генами токсинов, а это значит, что они также способны одновременно продуцировать более одного токсина, что влияет как на вирулентность возбудителя, так и клиническое проявление болезни [183; 311; 328; 429; 435]. Кроме того, полногеномное секвенирование показало, что выявленные на сегодняшний день диареегенные патотипы *E. coli* не являются статическими, вполне вероятно они пребывают в стадии динамического и продолжающегося смешивания генов вирулентности, а, следовательно, появления новых патогенных вариантов бактерии [12; 14; 326].

Термолабильный токсин (LT), или холераподобный токсин, назван так потому, что инактивируется при нагревании до 60 °C в течение 15 мин и на 78 % идентичен по нуклеотидным последовательностям с холерным токсином (ХТ), продуцируемым *Vibrio cholera*. Гены, кодирующие LT (*eltAB*), расположены на большой плазмиде pEnt, которая может передаваться непатогенным *E. coli*, превращая их в патогенные. Анализ последовательности показывает, что гены, кодирующие LT, были приобретены горизонтальным переносом от *V. cholerae* около 130 миллионов лет назад [294].

LT является важной частью группы токсинов, семейства токсинов АВ5, т. е. он состоит из одной субъединицы А (LTA), связанной кольцом из пяти субъединиц В (LTV) в виде пончика [181]. Для вхождения в клетку необходима только цельная, не измененная структура токсина. Во время активации LTA протеолитически расщепляется, выпуская спиральный С-концевой фрагмент, называемый А2. Процесс расщепления называется «разрезкой», которая не влияет на токсический

эффект LT, но она повышает активность АДФ-рибозилирования фрагмента LTA1, последний собственно и отвечает за развитие токсических эффектов [341; 430].

LT подразделяется на два варианта – LT-I и LT-II. Первый имеет два субварианта – LT-Ih (человеческий) и LT-Ip (свиной), которые не только обуславливают развитие диареи, но и улучшают адгезию ЕТЕС к кишечному эпителию. В отличие от LT-I, который кодируется плазмидой, LT-II кодируется хромосой и профагами и состоит из трех субвариантов – LT-IIa, LT-IIb и LT-IIc. LT-II преимущественно ассоциируется с *E. coli*, выделенной от животных, в то время как ген LT-I широко распространен среди штаммов, полученных как от людей, так и от животных. В полевых условиях LT-II чаще всего вызывает диарею у телят, хотя его гены были обнаружены у *E. coli*, выделенной также от буйволов, поросят, страусов [294; 343]. В лабораторных условиях очищенные LT-IIa и LT-IIb приводили к развитию тяжелой диареи у новорожденных поросят [269; 317].

Помимо токсического и адгезивного эффектов, у LT было выявлено адъювантное действие на различные антигены. Так, усиление гуморального и клеточного иммунного ответа было установлено после совместного парентерального или орального введения мутантного (нетоксичного) LT с антигенами возбудителей сальмонеллеза, столбняка, ящура, коклюша, бешенства, *Helicobacter pylori*. LT повышает секрецию воспалительных цитокинов и хемокинов и временно рекрутирует иммунные эффекторные клетки к месту иммунизации [181]. Также LT влияет на созревание дендритных клеток презентацию антигена и активацию В- и Т-клеток [340]. Следовательно, беря во внимание адъювантность LT и связанные с ней механизмы, лежащие в основе иммунорегуляции антигена, можно осуществлять разработку нетоксичных и эффективных адъювантов нового поколения [340; 430].

У животных LT-положительная *E. coli* обычно продуцирует фимбрии F4 и STb, что указывает на возможную функциональную связь между этими факторами вирулентности. Также было установлено, что при одновременном присутствии LT и ST происходит увеличение поступления воды в просвет кишечника сверх уровней, наблюдаемых под воздействием только одного из токсинов. Причем в эпителиальных клетках кишечника происходит синергидное

увеличение уровня только циклического гуанилинмонофосфата (цГМФ), тогда как уровень цАМФ не увеличивался [181].

Термостабильный токсин (ST) устойчив при нагревании до 100 °С в течение 15 мин. Считается, что ST является одним из главных секреторных экзотоксинов *E. coli*, вызывающих диарею, как у человека, так и у животных [174; 288]. Различают два типа термостабильного токсина: STa, обуславливающий диарею у людей, новорожденных поросят и телят и STb, обуславливающий диарею у молодняка различных животных, но особенно у поросят-отъемышей [297]. Эти пептиды кодируются двумя генами *estA* (STa) и *estB* (STb), которые расположены на плазмидах и их можно отличить друг от друга по растворимости в метаноле и чувствительности к протеазам. Энтеротоксин STa растворим в метаноле и устойчив к протеазам, в то время как STb нерастворим в метаноле и чувствителен к протеазам.

STa представляет собой семейство токсинов, состоящих из одной пептидной цепи приблизительно 2000 Да. Структура STa очень похожа на структуру эндогенных пептидов внешней мембраны энтероцитов млекопитающих — гуанилина и урогуанилина [181]. В зависимости от вида хозяина, STa дополнительно подразделяется на два варианта — STp (18 аминокислот), продуцируемый штаммами кишечной палочки, выделенными от поросят, телят, ягнят, жеребят, цыплят и человека, и STh (19 аминокислот), продуцируемый только штаммами, выделенными от человека [297; 342].

STb — высокоосновной пептид с молекулярной массой 5200 Да, состоящий из 48 аминокислот с четырьмя остатками цистеина, участвующих в образовании дисульфидных мостиков. Этот токсин первоначально синтезируется в виде препептида состоящего из 71 аминокислоты. Pre-STb содержит сигнальный пептид (23 аминокислоты) и зрелый энтеротоксин STb [181; 342]. Установлено, что STb может проникать вглубь тканей кишечника, используя трансклеточный проход путем формирования в клетках неспецифических пор за счет олигомеризации. Образование пор (каналов) внутри плазматической мембраны не сопровождается гибелью самих клеток и, по всей

видимости, представляет собой сигнальное событие, запускающее секрецию жидкости, связанную с диареей [273; 309].

Под действием STb наблюдается снижение всасывающей способности слизистой оболочки кишечника по причине гибели поглощающих клеток и уменьшения высоты их ворсинок. Причем токсин способен привести к частичной атрофии ворсинок в течении всего лишь двухчасового воздействия. Кроме того, наблюдался сдвиг в морфологии клеток от столбчатого к кубовидному эпителию, что соответствовало нарушенной абсорбционной способности. У поросят под влиянием STb площадь поверхности слизистой оболочки кишечника сокращалась на 20 % по сравнению со здоровыми сверстниками [437].

Помимо диареогенных свойств термостабильные энтеротоксины влияют на факторы врожденного иммунитета. В частности, был идентифицирован специфичный для STb ответ, включающий активацию IL-17A, IL-1 α и IL-1 β , а STa усиливает выработку в тонком кишечнике провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-6 и IL-8. В тоже время отсутствуют сведения о влиянии этих токсинов на функцию нейтрофилов, макрофагов, Т- и В-клеток, находящихся в ворсинчатом эпителии [288; 342; 435].

EAST1 – термостабильный токсин (сохраняет до 63 % активности при воздействии 65 °C в течение 15 мин) энтероаггративной *E. coli*. Именно у этого патотипа кишечной палочки он впервые был обнаружен. Однако отмечается, что этот токсин может иметь различные варианты, чем объясняется неодинаковая вирулентность EAST1-позитивных энтероаггративных *E. coli* в отношении экспериментальных биологических моделей [376; 312]. EAST1 представляет собой пептид, состоящий из 38 аминокислот, из которых четыре молекулы цистеина в положениях 17, 20, 24 и 27 образуют два дисульфидных мостика, необходимых для проявления токсичности. Молекулярная масса токсина 4100 Да. Ген EAST1 встречается примерно у 40 % штаммов энтероаггративной *E. coli*, изолированных от человека, у 22,7–53,3 % – от поросят и около 50 % – от телят [388; 449; 480]. Ген *astA*, обнаруженный у штаммов, выделенных от животных, имеет более 98 % гомологии с человеческими изолятами [376].

В настоящее время установлено, что геном EAST1 могут также обладать изоляты отнесенные к энтерогеморрагической, энтеротоксигенной, диффузно-адгезивной и энтеропатогенной *E. coli* и даже другие энтеробактерии (например, сальмонеллы и клебсиеллы) [296; 438]. Отмечается, что обнаружение EAST1-позитивных *E. coli* чаще всего ассоциируется со свиньями и крупным рогатым скотом, при этом они выделяются как от здоровых, так и больных животных с клиникой диареи и/или отечной болезнью [376; 438]. Установлено, что почти все F4-положительные штаммы *E. coli*, выделенные от поросят с диареей, были также EAST1-положительными. Поскольку фимбрия F4 является основным адгезином энтеротоксигенных *E. coli* свиного происхождения, предполагается, что EAST1 также может быть маркером вирулентности для изолятов кишечной палочки, выделяемых от поросят с диареей [386].

Предполагают, что сам по себе EAST1 не способен обуславливать развитие диареи, но при взаимодействии с другими токсинами, и, в частности с STa или LT, инициирует развитие профузного поноса [296; 387].

Шигаподобные токсины (STX) *E. coli* относятся к классу белковых токсинов AB5 с молекулярной массой 70 кДа. Они состоят из одного активного цитотоксического А-фрагмента (~32 кДа), который нековалентно связан с пятью рецепторсвязывающими В-фрагментами (7,7 кДа каждый). STX объединены в семейство токсинов, которое было названо в связи со значительной схожестью с цитотоксином *Shigella dysenteriae* типа 1, известного с начала девятнадцатого века. Однако первоначально STX именовали как веротоксины (VT), поскольку впервые их цитотоксическое действие было выявлено на культуре клеток Vero. Поэтому кишечные палочки, продуцирующие токсин шига (STEC) также еще обозначаются как кишечные палочки, продуцирующие веротоксин (VTEC) [378; 445].

Семейство включает два типа токсинов – STX 1 и STX 2, при этом STX 1 имеет три подтипа (a, c, d), а STX 2 – 9 подтипов (a, b, c, d, e, f, g, h, i) определяющиеся нуклеотидными различиями, биологической активностью и серологической неоднородностью. Основное структурное различие STX 1 от STX 2 заключается в том,

что в отличие от А-субъединицы STX 1 С-конец А-субъединицы STX 2 образует α -спираль после прохождения через центральную пору В-субъединиц [316; 353; 446].

Кодирование шигатоксинообразования происходит с помощью лямбда бактериофагов, ДНК которых интегрирует в бактериальную хромосому и существует там в виде профага. При заражении бактериальной клетки лямбдоидные фаги выбирают два сценария дальнейшего существования. Фаг может расти литически, тем самым убивая хозяина, или лизогенно, тогда фаг реплицируется вместе с хромосомой хозяина до тех пор, пока лизогенизированная клетка не воспримет сигнал, вызывающий литический рост [363; 338].

Каждый тип и подтип шигатоксинов кодируется отдельным бактериофагом. Шигатоксинпродуцирующие штаммы *E. coli* могут содержать как один, так и более одного бактериофага, кодирующего токсин. Общая конструкция фагов STX 1 аналогична конструкции фагов, кодирующих STX 2 [337; 362].

Отмечено, что штаммы, продуцирующие STX 2а, STX 2с и STX 2d связаны с наиболее тяжелыми случаями заболеваний у человека [337; 429]. От рогатого скота и свиней чаще всего выделяются штаммы *E. coli* продуцирующие STX 1с, STX 1d, STX 2d, STX 2е, STX 2f [377].

Выработка цитокинов и хемокинов эукариотическими клетками под действием STX способствует повреждению тканей толстой кишки, развитию осложнений в виде гемолитико-уремического синдрома и поражению ЦНС. Сигнальные пути, активируемые STX, связаны с возможной индукцией апоптоза в эпителиальных, эндотелиальных, лимфоидных и миелоидных клетках и провоспалительному эффекту, что ведет к повреждению тканей в различных органах [270; 363].

Как показали исследования, ряд патогенных бактерий, в том числе кишечная палочка, может продуцировать различные вещества, нарушающие клеточный цикл клеток-хозяев, а, следовательно, изменяющие их основные функции. Нарушение клеточного цикла вызывает генетическую нестабильность, которая в итоге может привести к развитию онкологических заболеваний. Такие вещества получили название **цикломодулинов, или генотоксинов**. Они представляют собой гетерогенный функциональный класс факторов вирулентности, которые

способствуют бактериальной инвазии и колонизации хозяина. Большинство цикломодулинов – это белки, но есть и вещества небелкового происхождения. Некоторые цикломодулины обладают ферментативной активностью и классифицируются как трансфераза, дезамидаза, дезаминаза, протеаза, гликозидаза, фосфатаза или ДНКза. Среди цикломодулинов, которые проявляют ферментативную активность, есть токсины АВ, которые взаимодействуют с рецепторами на поверхности клетки, используя один или несколько В-связывающих доменов, и модифицируют действие внутриклеточных мишеней-хозяев посредством их ферментативной активности через А-активный домен [181; 429].

У *E. coli* из этого класса токсинов обнаружены колибактин, цитотоксический некротизирующий фактор 1 (CNF1), цитолетальный расширяющий токсин (Cdt), фактор, ингибирующий клеточный цикл (Cif) и субтилаза АВ [284; 330].

Колибактин был впервые выявлен в 2006 г. у внекишечного менингеального штамма *E. coli*. В настоящее время установлено, что этот цикломодулин могут продуцировать также кишечные *E. coli* и ряд других энтеробактерий. Особенность действия колибактина на эукариотическую клетку заключается в индукции разрыва двухцепочечной ДНК и хромосомных перестроек, что приводит к старению, апоптозу или неконтролируемому делению клетки [279; 293]. Считается, что благодаря последнему свойству колибактин участвует в развитии колоректального рака у человека [452; 464].

Несмотря на выраженные патогенные свойства колибактина, имеются сведения и о его возможно полезном для организма действии. Например, у пробиотического штамма *E. coli* Nissle 1917 имеется геномный участок *pks*, с которым связывают его противовоспалительное действие при колите, поскольку *pks* контролирует синтез противовоспалительных соединений и обезболивающего липопептида, которые способны проникать через эпителиальный барьер и ингибировать кальциевые каналы, что снижает висцеральную чувствительность [13; 396].

Еще одной интересной функцией *pks* является продукция одной или нескольких молекул промежуточного продукта биосинтеза колибактина – преколибактина вещества *N-myristoyl-D-Asn*, которое высвобождается во время

созревания колибактина и проявляет слабую ингибирующую активность в отношении роста *Bacillus subtilis* и *S. aureus*. Таким образом, колибактин играет определенную роль, как при возникновении болезней, так и в качестве возможного терапевтического средства [279; 397].

Цитотоксический некротизирующий фактор 1 (CNF1) – бактериальный токсин, белковой природы, вырабатывается некоторыми вариантами патогенной *E. coli*. CNF1 был впервые описан в 1983 г. и отнесен к так называемому семейству дермoneкротических токсинов, обуславливающих многоядерность у культивируемых клеток и некроз кожи у кроликов. Данное семейство включает также CNF2, CNF3 и CNFY (выявлен у *Yersinia pseudotuberculosis*) [306; 320]. В подавляющем большинстве случаев штаммы *E. coli* продуцируют CNF1 [284]. Токсин кодируется геном *CNF1*, располагающемся на бактериальной хромосоме [344].

CNF1 принадлежит к одноцепочечным токсинам типа АВ с молекулярной массой 113,8 кДа, содержащим N-концевой рецептор-связывающий домен и С-концевой каталитический домен, которые разделены аминокислотной областью, состоящей из двух коротких мембранных спиралей Н1 (350–372 а.а.) и Н2 (387–412 а.а.), способствующих прохождению токсина через мембрану клетки [320].

Однако, наряду с негативными свойствами, в настоящее время CNF1 рассматривается в качестве вещества, улучшающего память при когнитивных нарушениях у человека. CNF1 обладает адьювантным действием, индуцируя выработку и секрецию провоспалительных и иммуномодулирующих цитотоксинов [306, 320].

Цитолетальный расширяющий (вспенивающий) токсин (Cdt) является белковым термостабильным голотоксином типа АВ2, состоящим из трех субъединиц – CdtA, CdtB и CdtC с молекулярной массой 23–30, 28–32 и 19–20 кДа соответственно. Впервые Cdt был выявлен в 1987 г. у энтеропатогенной *E. coli*, изолированной от больного гастроэнтеритом трехлетнего ребенка, в последующем Cdt+ *E. coli* была выделена от здоровых и больных людей, крупного рогатого скота, свиней и птиц [382; 330; 462].

Действие Cdt на организм хозяина связано в основном с нарушением эпителиального барьера, вызванного остановкой клеточного цикла и последующей гибелью эпителиальных клеток, а также со снижением иммунной защиты, обусловленной чрезвычайной чувствительностью лимфоцитов к цитотоксичности Cdt и измененными функциями макрофагов [412].

Взаимодействие Cdt с моноцитами/макрофагами не заканчивается гибелью клеток, но нарушение передачи сигналов PI-3K изменяет их продукцию провоспалительных цитокинов, что проявляется повышенной экспрессией и высвобождением IL-1 β , IL-18, TNF α и IL-6. Чрезмерное и длительное высвобождение провоспалительных цитокинов приводит к повреждению собственных тканей организма, сопровождающемуся сильной воспалительной реакцией [461; 462].

Фактор, ингибирующий клеточный цикл (Cif), является белком-эффектором, состоящим из 282 аминокислот. Он доставляется в эукариотическую клетку через систему секреции 3 типа (T3SS) присутствующую у энтеропатогенной и энтерогемморрагической *E. coli*. В клетке-хозяина Cif вызывает цитопатический эффект (ЦПЭ), который сначала характеризуется прогрессирующим образованием актиновых стрессовых волокон вместе с очаговыми спайками и резким увеличением клеток, а в последующем блокированием пролиферации при полном отсутствии делящихся (митотических) клеток. Исследованиями установлено, что до 60–70 % штаммов данных патотипов, изолированных от человека, животных и окружающей среды, являются Cif-положительными, однако только $\frac{1}{3}$ из них индуцировали характерный ЦПЭ [291].

Cif кодируется лямбдоидным профагом, а области, кодирующие Cif, обнаруживаются в доменах ДНК, склонных к перестройке, а это может указывать на то, что ген Cif распространяется путем горизонтального переноса между штаммами энтеропатогенных и энтерогемморрагических *E. coli* [181].

Субтилаза АВ, или субтилазный токсин (SubAB), представляет собой токсин типа АВ5, который вырабатывается шигатоксинпродуцирующей *E. coli*. SubAB включает пять субъединиц В массой 13 кДа, которые связываются с рецепторами клеток-хозяев, и одну субъединицу А массой 35 кДа, выполняющую

ферментативную функцию необходимую для цитотоксичности. Правда до сих пор не известно, действуют ли STX и SubAB в синергизме или они противостоят друг другу. Эффекты SubAB были изучены на мышах при этом было установлено, что он вызывает повреждение микрососудов, тромбоз и некроз в мозге и печени. Кроме того, у мышей выявляли микроангиопатическую гемолитическую анемию, тромбоцитопению и нарушение функции почек характерные для гемолитико-уремического синдрома у людей [407].

Различные патотипы *E. coli* могут продуцировать так называемые **порообразующие токсины** (Pore-Forming Toxins; PFT) – это белки-мономеры, представляющие собой растворимые в воде молекулы, которые олигомеризуются на поверхности клетки-хозяина после связывания со специфическим рецептором (сахаром, липидом или белком). Такие структурные изменения ведут к образованию мембранных каналов, что сопровождается формированием нерегулируемых пор и лизисом клеток [246; 414; 436]. Структурно все PFT подразделяют на два основных класса – α -PFT и β -PFT [398; 451].

У патогенных *E. coli* выявлено три вида порообразующих токсинов – колицины (A, N, Ia, E1, B), гемолизин A (HlyA, α -гемолизин, RTX-токсин) и гемолизин E (HlyE, цитолизин A) [221].

Колицины являются типичными α -PFT и обычно представляют собой крупные белки с высокой молекулярной массой (40–80 кДа). Первый колицин под названием «элемент V» был выделен в 1925 г. Gratia из бульонной культуры вирулентной кишечной палочки, который оказывал ингибирующее действие на другой штамм *E. coli* [262]. В настоящее время идентифицировано 25 различных представителей колицина, среди которых только колицины E1, A, B, N, Ia, Ib, K, 5, 10 являются порообразующими и используются своими продуцентами для избирательного уничтожения других бактерий в микробном сообществе путем формирования отверстий в их внутренних мембранах. Наиболее изученными пороформирующими колицинами являются колицины E1, A, B, N и Ia [414].

Колицины не синтезируются или в незначительном количестве продуцируются в благоприятных для бактериальной клетки условиях, сигналом для их

экспрессии является появление различных негативных условий для их роста. При этом не все клетки сразу начинают вырабатывать этот белок, а лишь только около 0,1–3 %. Одновременно с колицином в бактериальной клетке начинает синтезироваться белок лизиса, который позволяет колицину высвободиться в окружающую среду, поскольку вызывает гибель своего продуцента. Однако колицин может синтезироваться и без белка лизиса [280].

Гемолизин А (HlyA, RTX) представляет собой многодоменный полипептид массой 110 кДа, который высвобождается из бактериальных клеток посредством механизма секреции I типа [181; 401]. HlyA принадлежит к классу α -PFT и входит в семейство RTX токсинов (repeats in the structural toxin).

Schwidder с соавторами [440] приводит сведения о распространении гена *HlyA* у различных изолятов *E. coli*. Как оказалось, частота регистрации *HlyA*-позитивных *E. coli* среди клинических изолятов, выделенных от человека и продуктивных животных, а также пищевых продуктов колеблется в диапазоне от 12 до 96 %.

HlyA обладает высокой цитолитической активностью по отношению к богатым гемоглобином эритроцитам, но может также лизировать различные эпителиальные клетки и лейкоциты человека и животных, которые распознает благодаря наличию у этих клеток специфических рецепторов [221; 181].

При заражении мышей внутрибрюшинно HlyA у них выявляли увеличение IL-1 α и IL-1 β , а также отмечали повышенную секрецию гистамина, увеличение дегрануляции тучных клеток, уменьшение жизнеспособности лейкоцитов, лизис эритроцитов и снижение естественной сопротивляемости организма к другим бактериям. При введении HlyA в кровяное русло сосудов брыжейки лабораторным животным у них отмечалось временное повышение артериального давления, падение кислорода, повышение уровня гемоглобина, а в слизистой оболочке кишечника наблюдался отек и разрушение [433]. Считается, что изменение оксигенации и повышение CO₂ могут способствовать конкурентоспособности *E. coli* в слизистой оболочке кишечника [446].

Гемолизин Е (HlyE/ClyA, цитолизин А) является представителем семейства цитолизина А класса α -PFT, который кодируется хромосомным геном,

обозначаемым *ClyA* (также называемым *HlyE* и *SheA*). Токсин HlyE/ClyA вызывает гемолиз эритроцитов и влияет на передачу сигналов Ca^{2+} у эпителиальных клеток кишечника [346]. HlyE – это водорастворимый мономерный белок массой 33,6 кДА, имеющий форму стержня. Функциональным гомологом HlyE является ClyA, продуцируемый *Salmonella enterica* и *Shigella flexneri* [414; 434].

Установлено, что полноценным геном *ClyA* обладают до 80 % патогенных *E. coli*. Однако в стандартных условиях при посеве *E. coli* на кровяном агаре гемолизин Е может не вырабатываться, что связано с подавлением транскрипции *ClyA* нуклеоидным белком H-NS. Экспрессия ClyA активизируется и становится фенотипически проявляемой (наличие гемолиза) при перепроизводстве транскрипционного регулятора SlyA, который присутствует только у патогенных штаммов. ClyA сам по себе проявляет цитотоксическую активность, опосредуя апоптоз макрофагов и способствуя бактериальной инвазии [381; 469].

Таким образом, из представленного материала видно, что патогенные *E. coli*, обладая способностью продуцировать широкий круг токсидных структур, могут обуславливать целый ряд патологических изменений в организме, иногда даже, не совместимых с жизнью. Характер этих изменений напрямую зависит от патотипа(ов) кишечной палочки и вида(ов) продуцируемого ею экзотоксина, что следует учитывать при организации диагностических, терапевтических и профилактических мероприятий.

1.3 Патотипы диареегенной *E. coli* и особенности механизма развития эшерихиоза

В настоящее время биоварианты *E. coli*, вызывающие диарею, разделены на семь основных патотипов: энтеропатогенная кишечная палочка (ЕРЕС), энтерогеморрагическая (ЕНЕС), энтероинвазивная (ЕИЕС), энтероаггративная (ЕАЕС), энтеротоксигенная (ЕТЕС), диффузно-адгезивная (ДАЕС) и адгезивно-инвазивная (АИЕС) [181; 426]. В последнее время некоторые авторы выделяют еще один

дополнительный патотип – шигатоксин продуцирующая энтероаггративная *E. coli* (STEC-EAEC) [221; 294; 313; 387].

Кроме того, выделяют три патотипа *E. coli*, обуславливающие внекишечные инфекции (ExPEC): уропатогенная кишечная палочка (UPEC), неонатально-менингиальная кишечная палочка (NMEC) и птицепатогенная кишечная палочка (APPEC) [181; 221].

Наибольшим этиологическим разнообразием отличается эшерихиоз поросят. Так, Вуин с соавторами [400], проанализировав 850 хозяйств в Южной Корее, установил, что в 56,5 % случаев причиной диареи у поросят после отъема была ETEC, 19,2 % – STEC, 8,7 % – ETEC/STEC, 7,6 % – EPEC. Аналогичные результаты были получены Hrala с соавторами [315], которые установили, что ETEC была причиной диареи поросят в 60 % случаях, STEC – 30 %, ETEC/STEC – 10,5 %. В тоже время Li [418] установил, что в Китае в подавляющем большинстве случаев диарею у отъемных поросят вызывали EAEC, продуцирующие EAST1, в меньшем количестве идентифицировалась ETEC и STEC.

У телят отмечена высокая распространенность STEC, EPEC и EHEC [358]. Считается, что отсутствие у взрослого крупного рогатого скота рецептора к STX в сосудистом эндотелии является причиной отсутствия у него системного поражения, но в тоже время делает его идеальным кандидатом в качестве резервуара STEC/EHEC для человека. Исследованиями Hashish с соавторами [310] было установлено, что в настоящее время преобладающим этиологическим фактором диарей у телят является STEC, которая выделяется в 72–87 % случаях. Распространение ETEC, EHEC и EPEC составило 28,4; 5,0 и 29,5 % соответственно.

Что касается EAEC, DAEC и AIEC, то эти патотипы также выделяются от больных телят и поросят, но их роль в развитии диарей и распространение остаются малоизученными [181; 352].

ЭТКП. Исследованиями установлено, что основным возбудителем кишечного эшерихиоза у молодняка крупного рогатого скота и свиней, является энтеротоксигенная кишечная палочка (ETEC). Данный патотип кишечной палочки чаще всего поражает новорожденных телят и поросят двух возрастных групп –

первых дней жизни (неонатальная колидиарея) [266; 443] и в первые недели после отъема (постотъемная колидиарея) [298].

По мнению J. Daniel Dubreuil [294] ЕТЕС является наиболее частой причиной кишечной инфекции у сельскохозяйственных животных. Характеризуются способностью производить два типа факторов вирулентности: адгезины, которые способствуют связыванию со специфическими рецепторами энтероцитов для кишечной колонизации и энтеротоксины, ответственные за секрецию жидкости. Адгезины с лучшими характеристиками экспрессируются в виде фимбрий, таких как фимбрии F4 (также обозначенные как K88), F5 (K99), F6 (987P), F17 и F18. Факторы колонизации F5, F6, F17 и F41 связаны со штаммами ЕТЕС, вызывающими неонатальную диарею, а F18 обычно ассоциируется со штаммами, вызывающими РWD, и F4 с обоими типами штаммов [385]. STa-продуцирующий ЕТЕС единственный токсин связан с заболеванием у новорожденных свиней, телят, ягнят и собак [359; 444].

После того, как ЕТЕС локализуется в тонкой кишке животного, она производит энтеротоксины, которые приводят к диарее. Энтеротоксины относятся к двум основным классам – термолабильным токсинам, состоящим из одной активной и пяти связывающих субъединиц (LT), и термостабильным токсинам, представляющим собой небольшие полипептиды (STa, STb и EAST1). Сопутствующая продукция нескольких энтеротоксинов была подтверждена у поросят [298]. Адгезия ЕТЕС к кишечному эпителию обеспечивает эффективную доставку токсинов [309]. Секреция воды и электролитов в просвете кишечника является результатом активности токсинов. ЕТЕС, как известно, вызывает быстрое начало секреторной диареи, приводящей к обезвоживанию. Диарея представляет собой мягкий или водянистый кал, содержащий менее 10 % сухого вещества. Смертельные инфекции ЕТЕС происходят в результате серьезного обезвоживания и дисбаланса электролитов.

ЭПКП. Энтеропатогенная кишечная палочка (ЕРЕС) относится к группе бактерий, которые способны образовывать характерные поражения на поверхностях кишечных эпителиальных клеток, за счет факторов адгезии и деструкции

этих клеток. ЕРЕС была первым выявленным патотипом среди диареегенных кишечных палочек. Термин «ЕРЕС» впервые использовался в 1955 г. [264].

В целом, ЕРЕС является неинвазивным организмом и не производит LT или ST энтеротоксины. ЕРЕС принадлежит к группе патогенных бактерий, способных вызывать поражения на поверхности кишечного эпителия хозяина. ЕРЕС является прототипом организма для штаммов, вызывающих гистопатологию адгезивного поражения клеток [181].

ЕРЕС колонизируют плазмолемму энтероцитов, вызывают повреждение поверхности эпителия с образованием эрозий и умеренного воспаления. Заражающая доза 10^5 – 10^{11} клеток. Процесс локализуется в области тонкой кишки. Адгезивное поражение является отличительной чертой патогенеза ЕРЕС, характеризующийся стиранием границы кисти микроворсинки в месте прикрепления бактерий, что сопровождается образованием актиновых мостиков, которые простираются от поверхности эпителия в просвет клетки. Трехступенчатая модель патогенеза ЕРЕС была впервые описана в начале 1990-х гг. Донненбергом и Капер. Одновременно с основными поражениями, бактериальные эффекторные белки проникают в клетку хозяина, где они разрушают динамику актина и других клеточных процессов. Для заболевания характерны водянистая диарея и выраженное обезвоживание [60; 355].

ЭГКП. Энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЕНЕС), или шигатоксинпродуцирующая кишечная палочка (STEC) – патогенная бактерия, которая вызывает симптомы острого кишечного отравления (диарея или геморрагический колит), осложняющегося формированием гемолитико-уремического синдрома (ГУС) – редкое заболевание человека, характеризующееся микроангиопатической гемолитической анемией, тромбоцитопенией и острой почечной недостаточностью. В то время как «атипичный ГУС» (а-ГУС) возникает из-за дефектной активации и регуляции системы комплемента, «типичный ГУС» связан с шига-токсин-продуцирующей *E. coli* (STEC) [97; 334; 354; 369].

Распространенным и значимым для здравоохранения серологическим вариантом ЕНЕС является серовар O157:H7. С 1980 г. ЕНЕС O157:H7 была признана в качестве основной причины ГУС [60; 337; 365].

STEC обнаружены у самых разных видов животных, как естественных обитателей кишечника. Жвачные животные, в том числе крупный рогатый скот, являются наиболее важным резервуаром зоонозного STEC. Эти патогены могут передаваться человеку разными путями, но основным считается зараженная пища при контакте с фекалиями [60]. Носителями возбудителя также могут быть свиньи, лошади, олени, птицы, собаки и кошки [60; 359]. Поросята могут быть носителями возбудителей колидиареи новорожденных поросят, колидиареи поросят послеотъемного периода (O157:K88+; JT+; O157:F18+); отечной болезни (O157:F18+; STX 2+), роль которых в патологии человека пока остается неопределенной.

Инфекционная доза ЕНЕС для человека очень низкая (от 10 до 100 клеток), что резко увеличивает риск возникновения заболевания [264; 394]. После колонизации кишечника STEC может быстро развиваться диарея, которая в 85 % случаев может быть геморрагической. По мнению С. Menge [378] до 82 % крупного рогатого скота во всем мире выделяют STEC с фекалиями. Крупный рогатый скот заражается в раннем возрасте. После начальной репликации в подвздошной, слепой и толстой кишке устанавливается персистирующая инфекция, за которой следует длительное выделение бактерий в течение нескольких месяцев. Несмотря на то, что телята выделяют STEC в течение более длительного времени, чем взрослый крупный рогатый скот, однако последний содержат STX-специфические антитела, предыдущая инфекция STEC не защищает от повторного заражения тем же самым штаммом [181; 353].

В основном экспериментальные и естественные инфекции STEC у крупного рогатого скота протекают бессимптомно [373]. Эпидемиологические исследования и экспериментальные инфекции предполагают, что STEC способны вызывать кровавую диарею у телят при некоторых обстоятельствах, но патогенность приписывается бактериальным факторам соответствующих штаммов, отличных от STX s [419]. У поросят STEC вызывает отечную болезнь, при которой индуцированное STX повреждение эндотелиальных клеток является ключевым событием в патогенезе [292; 298; 328; 417].

ЭИКП. Энтероинвазивная кишечная палочка (EIEC), как и *Shigella* spp. относится к факультативно внутриклеточным патогенам. EIEC впервые была описана как «параколон-бацилла» в 1944 г., но позже была обозначена как *E. coli* O124 [15; 387].

Инфицирующая доза EIEC находится несколько выше, чем у шигелл и составляет 10^5 клеток. Патогенность EIEC связана со способностью внедряться в эпителиальные клетки слизистой оболочки кишечника и размножаться внутри них, вызывая их разрушение. Местом заражения EIEC является слизистая оболочка нижнего отдела подвздошной и толстой кишки. Бактериальные клетки прикрепляются к эпителиальным клеткам толстой кишки с последующим проникновением энтероцитов посредством эндоцитоза. Эндоцитарная вакуоль лизируется с последующим внутриклеточным размножением бактериальных клеток. Существует направленное движение EIEC через цитоплазму, опосредованную прикреплением клеточного актина к одному полюсу бактериальной клетки; актин помогает в продвижении бактерий в соседние эпителиальные клетки [339; 387]. Таким образом, происходит межклеточное распространение EIEC без входа во внеклеточную среду.

У большинства пациентов EIEC инфекция приводит к водянистой диарее; однако в некоторых случаях стул может содержать кровь и слизь с проявлением колитического синдрома [60].

ДАКП. Диффузно-адгезивный патотип *E. coli* (DAEC) включает диареагенные штаммы кишечной палочки, которые прикрепляются к клеткам по неклассической модели адгезивных свойств.

Mirsepasi-Lauridsen [314] и Riley [432] отмечают, что DAEC являются одним из возбудителей язвенного колита у человека и основным является штамм ExPEC, экспрессирующий афимбриальные адгезины (afa). Также было показано, что DAEC прилипает к слизистой оболочке толстой кишки у пациентов с язвенным колитом и способствует провоспалительным реакциям посредством взаимодействия своих бактериальных адгезинов с мембраносвязанными рецепторами хозяина [392].

Основные факторы прикрепления DAEC к клеткам кишечника были исследованы Ле Бугенекком и Сервином в 2006 г. и Servin в 2005 г. на прототипном штамме [442]. DAEC классически определяется ее диффузным прикреплением (DA) к культивируемым эпителиальным клеткам HEp-2, где происходит бактериальная адгезия по всей поверхности клетки в рассеянном порядке. Адгезины DAEC связываются с апикальной поверхностью поляризованных эпителиальных клеток, после чего происходит перестройка цитоскелета и индуцируется разрушение или частичная перестройка микроворсинок.

Также отмечают филогенетическую связь между патотипами EAEC и DAEC. Несколько факторов вирулентности как для EAEC, так и для DAEC были связаны с клиническими проявлениями. При этом штаммы DAEC содержат несколько систем удаления железа, токсины, адгезины и факторы устойчивости к комплементу или факторы уклонения от иммунной системы, которые предполагают патогенную парадигму этого патотипа [181].

ЭАКП. Энтероаггративная кишечная палочка (EAEC, или EAaggEC) была впервые выделена в 1985 г., а идентифицировали ее в 1987 г. [258; 387]. Золотым стандартом для идентификации EAEC является обнаружение паттерна агрегативной адгезии (AA) на клетках HEp-2/HeLa, на поверхности которых *E. coli* формируют скопления в виде кирпичной кладки [258]. Установление паттерна AA было связано с наличием пяти различных агрегированных фимбрий прикрепления (AAF/I-AAF/V), которые относятся к подклассу шаперонообразующих, а также афимбриальных адгезинов [387; 391; 468].

После прикрепления к эпителию кишечника EAEC продуцирует несколько энтеротоксинов и цитотоксинов, является белок дисперсин (Aap), который способствует распространению бактерий в эпителии кишечника. Другие факторы, которые могут способствовать прилипанию EAEC, включают термостабильный гемагглютинин, длинные полярные фимбрии, обыкновенные ворсинки и пили [437; 482].

В развитии энтероаггративного эшерихиоза можно выделить общую модель патогенеза, которая заключается в следующем:

1. Прикрепление к слизистой оболочке кишечника.
2. Продуцирование энтеротоксинов и цитотоксинов.
3. Воспаление слизистой оболочки.

Первый этап патогенеза связан с фимбриальной адгезией (ААФ) и афимбриальными адгезинами ЕАЕС. Для второго этапа патогенеза – токсинообразования, характерна везикуляция микроворсинок, увеличенные отверстия в крипте и увеличение экстррузии эпителиальных клеток. Эти предполагаемые токсины включают белки ЕАЕС, изменяющие цитоскелет [181].

На заключительном этапе патогенеза по мнению Ferreira [460] воспалительный процесс связан с повышенной секрецией провоспалительных цитокинов, миграцией лейкоцитов в место инфицирования и повреждения тканей, что соотносимо с симптомами диарейного заболевания. Штаммы ЕАЕС могут способствовать выработке ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и TNF- α эпителиальными клетками кишечника. В тоже время продукция противовоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-10, не обнаружена.

Заражение людей происходит в основном через воду и пищу, определенный риск представляют салаты, свежие овощи и фрукты. ЕАЕС также была выявлена у телят, поросят и лошадей, которые потенциально могут являться резервуаром патогенного для человека патотипа ЕАЕС [181].

АИКП. Адгезивно-инвазивная кишечная палочка (АІЕС) была выявлена в качестве одного из возбудителя, который являлся причиной воспаления кишечника, поражающая преимущественно тонкую кишку (так называемая болезнь Крона) [252; 456].

Способность прикрепляться к эпителиальным клеткам кишечника и проникать в них, а также выживать и размножаться внутри макрофагов являются ключевыми характеристиками штаммов АІЕС [314; 482]. Начальная стадия патогенеза АІЕС начинается с адгезией к клеткам-хозяевам в подвздошной кишке за счет подвижности жгутиков и использует поверхностную экспрессию пилей типа 1 для закрепления на эпителиальных клетках [247].

Mirsepasi-Lauridsen с соавторами [314] отмечает, что AIEC влияет на такие процессы в клетке-хозяине как синтез белка, передача сигналов, клеточное деление, секреция ионов, транскрипция, функция цитоскелета и функция митохондрий. Исследования AIEC показывают, что она способна прикрепляться к слизистой оболочке кишечника путем связывания с молекулами клеточной адгезии, проникать в эпителиальные клетки кишечника с помощью актиновых микрофиламентов и микротрубочек клеток-хозяев. Исследования также показывают, что AIEC способна выживать в макрофагах, стимулировать продукцию TNF- α и способствовать гранулематозному воспалительному ответу [466].

ШПЭАКП. Обычная шигатоксин-продуцирующая кишечная палочка (STEC) представляет собой гетерогенную группу патогенов пищевого происхождения, вызывающих широкий спектр заболеваний человека, от неосложненной диареи до гемолитико-уремического синдрома (ГУС). Но известны случаи ГУС, возбудителем которого являлся штамм O59:NM[H19], получивший обозначение STX-EAEC, поскольку имел гены *STX 2a*, *iha*, *lpfA O26*, *lpfA O113*, связанные со STEC, а также гены *aatA*, *aap*, *pic*, *sigA*, *agg4A*, связанные с EAEC. После крупной вспышки, обусловленной STX-EAEC O104:H4, было описано множество штаммов с похожими профилями. В Германии штамм O59:NM[H19] с характеристиками, сравнимыми с аргентинским штаммом, был выделен от человека при кровавой диарее [181].

При исследовании STX-EAEC с помощью геномного секвенирования было продемонстрировано, что штамм EAEC был инфицирован STX 2-фагом, который стал ответственным за новый патотип 3.

Между тем, делеция генов *aggR* или *aggA* в прототипах штаммов STX-EAEC значительно снижает адгезию бактерий [391]. Более того, удаление *aggR*, *aggA*, *sepA* или STX 2a-кодирующего фага приводило к снижению секреции ИЛ-8 из инфицированного монослоя. Эти последние результаты позволяют предположить, что AggR-регулируемые фимбрии AAF/I усиливают воспаление и позволяют штамму прилипать к эпителиальным клеткам и способствовать транслокации STX 2a через эпителий кишечника [258; 391].

Таким образом, из представленного материала видно, что этиологический профиль эшерихиоза весьма разнообразен и включает большое разнообразие биологических вариантов, обладающих определенным набором факторов патогенности, позволяющим объединять их в определенные патотипы. Однако в ряде случаев набор факторов патогенности может быть таким, что его обладателя становится трудно идентифицировать и определить принадлежность к конкретному патотипу. Учитывая данное обстоятельство, профилактика эшерихиоза должна базироваться на двух направлениях: первое – это создание неблагоприятных условий для селективного отбора и размножения патогенных *E. coli* в организме телят и поросят, а второе – обеспечение специфической защиты от ключевых патогенетических факторов вирулентности возбудителя.

1.4 Эффективные подходы в профилактике эшерихиоза телят и поросят

1.4.1 Использование технологических приемов и кормовых добавок

Возбудителю эшерихиоза для проявления своего патогенного потенциала необходимы определенные условия, которые, прежде всего, связаны с наличием у новорожденных телят и поросят агаммаглобулинемии, низкой адаптивной способности и относительной стерильности желудочно-кишечного тракта. Поэтому основа неспецифической профилактики эшерихиоза телят и поросят включает в себя выполнение таких мероприятий как:

1. Обеспечение физиологически полноценного развития плода и биологически полноценного молозива у матери.
2. Обеспечение оптимальных условий постнатального содержания приплода.
3. Обеспечение условий, препятствующих эндогенному и экзогенному развитию и сохранению патогенных эшерихий [213; 289; 301; 321; 447].

Способствующими факторами появления, распространения и стационарности эшерихиоза в различных формах его проявления являются нарушения технологии кормления и гигиены содержания, как маточного поголовья, так и молодняка. Поэтому технологическим приемам неспецифической профилактики эшерихиоза необходимо уделять не меньшее внимание, чем специфической. Следует помнить, что эшерихиоз становится проблемой там, где не уделяется должного внимания технологическому и ветеринарно-санитарному регламенту содержания продуктивных животных [19; 20; 21; 230; 307; 322; 476].

Неспецифическая профилактика эшерихиоза телят требует соблюдение таких основополагающих условий как:

- физиологически полноценное, бережное содержание сухостойных коров и глубокостельных нетелей с целью благоприятного протекания у них беременности и формирования физиологически развитого приплода в период внутриутробного развития и получения качественного в кормовом и иммунном плане молозива;
- обеспечение оптимального уровня зоогигиенических параметров и санитарного состояния родильных отделений и профилакториев;
- соблюдение технологического регламента выпаивания молозива;
- использование биологических и (или) фармакологических средств, модулирующих колонизационную и неспецифическую резистентность новорожденных телят [7; 40; 47; 58; 155; 175; 225; 231; 318].

В свою очередь, поросята поражаются эшерихиозом в различном возрасте, поэтому болезнь у них регистрируется в виде неонатальной диареи (поражаются поросята-сосуны в течение первой недели жизни), постотъемной диареи (поражаются поросята в течение первой недели после отъема) и отечной болезни (поражаются поросята группы доращивания). Несмотря на то, что эшерихиоз у поросят обуславливают конкретные виротипы *E. coli*, но для реализации их патогенного потенциала требуются определенные предрасполагающие и способствующие факторы, играющие роль триггера в запуске эшерихиозной инфекции. В связи с этим, эшерихиоз относят к группе факторных болезней, при которых основополагающую роль играет неспецифическая профилактика [28; 32; 145; 263; 274].

К предрасполагающим факторам относятся анатомо-физиологические особенности новорожденных поросят, которые включают в себя агаммаглобулинемию, отсутствие свободной соляной кислоты и пепсина в желудочном соке (их роль выполняет химозин), достаточно высокий (4,5–5,6) pH химуса желудка, недостаток желчных кислот в желчи, отсутствие колонизационной резистентности, низкая адаптационная способность (за счет несформированной системы терморегуляции) [19; 63; 166; 303; 428].

В развитии постотъемной диареи ключевым предрасполагающим фактором является эмоциональный и кормовой стресс, связанный с удалением матери и лишением поросят материнского молока. После отъема в течение нескольких дней секреция и активность пищеварительных ферментов у поросят резко падает, поскольку кардинально меняется корм и к нему необходимо привыкнуть. Установлено, что при переводе на твердые корма происходит уменьшение высоты ворсинок слизистой оболочки кишечника на 18–55 %. Масса кишечника за первые два дня после отъема снижается на 20–30 %, причем в основном за счет слизистой оболочки [63; 304; 473]. Кроме того, у поросят-отъемышей все еще не до конца сформирован микробиом и под влиянием стресса в его составе и функциональных способностях происходят глобальные негативные изменения, которые приводят к развитию диареи [323; 350; 409; 453].

Исследования С. Н. Тельнова [177] показали, что стресс-факторы отъема влияют не только на состояние кишечного микробиоценоза, но и на показатели крови поросят, характеризующие их резистентность. В частности, было установлено, что в первые дни после отъема у поросят понижается содержание гемоглобина и лимфоцитов, уменьшается фагоцитарная активность нейтрофилов.

К развитию отечной болезни предрасполагает недостаточная ферментативная активность секретов пищеварительной системы в отношении протеина зернового корма. В результате неполного расщепления белка, часть его попадает в толстый кишечник, где служит питательным субстратом для различных бактерий, в том числе патогенной *E. coli*. Кроме того, к отечной болезни

у поросят до 2–4-месячного возраста предрасполагает нестабильный состав их кишечного микробиома, который в значительной степени также зависит от состава и качества потребляемых кормов [4; 136; 190; 276; 409; 410].

Поэтому неспецифическая профилактика эшерихиоза поросят требует соблюдение таких условий как:

- физиологически полноценное, бережное содержание супоросных свиноматок с целью благоприятного протекания у них беременности и формирования физиологически развитого приплода в период внутриутробного развития и получения качественного в кормовом и иммунном плане молозива;
- обеспечение оптимального уровня зоогигиенических параметров и санитарного состояния свинарников-маточников;
- соблюдение технологии и гигиены кормления поросят-сосунов и отъемышей;
- использование биологических и (или) фармакологических средств, модулирующих колонизационную и неспецифическую резистентность поросят-сосунов и поросят-отъемышей [136; 176; 238; 260; 282].

К способам неспецифической профилактики эшерихиоза новорожденных телят относят использование различных лекарственных трав и препаратов на их основе (фитобиотики), про- и пребиотиков, синбиотиков, органических кислот, адаптогенов и иммуномодуляторов [9; 137; 161; 166; 213; 283; 403; 405].

Новорожденным телятам со 2–3 дня после рождения необходимо давать питьевую воду, однако если речь идет о профилактике эшерихиоза (или других неонатальных болезнях, сопровождающихся диарей), то лучше простую воду заменить отваром или настоем лекарственных трав [64; 92; 277; 368; 374].

По результатам масштабных исследований, посвященных возможности использования лекарственных трав в профилактике эшерихиоза (колибактериоза) у телят, в литературе есть сведения, что весьма эффективными оказались настои и отвары из таких растений как пижма, зверобой, тысячелистник, крапива, крохальба в дозе 0,6–1 мл/кг или порошок из этих трав в дозе 0,3–0,5 г/кг, который перед применением надо развести в 200–300 мл теплой кипяченой воды.

Выпойка препаратов из указанных лекарственных растений позволила снизить заболеваемость на 40 %, увеличить прирост живой массы на 10–15 % и повысить общую резистентность животных [80; 228].

Сообщается [189] о высоком профилактическом эффекте применения отвара коры черёмухи (1:20), который давался телятам со 2-го дня и до достижения 6-дневного возраста в дозе 200 мл два раза в день. При этом у телят не только реже выявляли понос, но также отмечали улучшение обмена веществ и повышение общей резистентности.

В ходе проведения обширного систематического обзора литературы, посвященного использованию лекарственных растений для лечения и профилактики желудочно-кишечных болезней у телят и поросят, есть сведения, что наиболее перспективными кандидатами для этого являются чеснок посевной (*Allium sativum* L.), мята перечная (*Mentha piperita* L.) и шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) [138; 223; 332].

Многообещающий результат был получен при добавлении в комбикорм 1–2 % экстракта европейского каштана поросятам сразу после их отъема. Были значительно улучшены показатели роста и заметно снижена частота диареи, обусловленная энтеротоксигенной кишечной палочкой (ETEC F4) [431].

Пробиотические препараты для телят, разработанные у нас в стране, чаще всего включают ограниченное количество видов лактобацилл, бифидобактерий, пропионибактерий, энтерококков и бацилл. Наиболее распространенными и широко зарекомендовавшими себя являются следующие пробиотики [27; 101; 137; 139; 160; 182; 229; 467]:

- ацидофильно-бульонная культура (АБК) – продукт, получаемый путем культивирования *Lactobacillus acidophilus* в условиях лаборатории или биофабрики на питательной среде, содержащей молочную сыворотку и дрожжевой экстракт. Препарат применяется 2–3 раза в день с первых дней жизни в течение всего периода новорожденности в дозе 50–80 мл;

- сухой ацидофилин – культура ацидофильных бактерий, выращенных на специальной среде. В 1 г содержится не менее 200 млн живых бактерий.

Применяется перорально с молозивом в дозе 7,5–20 г на одно животное в сутки. Суточную дозу скармливают равными частями в три приема;

– пропионово-ацидофильная бульонная культура (ПАБК) – продукт, получаемый путем культивирования *Propionibacterium freudenreichii (chermanii)* и *Lactobacillus acidophilus* на среде, содержащей гидролизат крови, молочную сыворотку и дрожжевой экстракт. Препарат помимо живых симбионтных бактерий, включает пропионовую и молочную кислоты, а также витамины группы В (особенно В₁₂). Применяется с первого дня жизни телят в суточной дозе 30–50 мл в течение 2–3 дней с молозивом;

– ветом 1.1 – представляет собой порошок, состоящий из спор бактерий *Bacillus subtilis*. Назначают внутрь индивидуально или групповым способом с кормом или водой. С целью профилактики препарат дают животным сразу после рождения по 50 мг/кг веса один раз вдвое суток в течение 10 дней [33; 41].

Помимо выше перечисленных пробиотиков имеются сообщения об эффективном использовании в профилактике неонатальных диарей (в том числе эшерихиоза) у телят пробиотика Авена (*Enterococcus faecium* L3), Энтероколл (*E.coli* 64Г), Лаксубтил (*B. subtilis*), Сахабактисубтил (*B. subtilis*), Зоостим-М (консорциум из эшерихий, лактобацилл, азотобактеров, бацилл и дрожжей), Пролам (консорциум из лактобацилл, лактококков и бифидобактерий), Ацидо Био-ЦИТ (культуральная среда *Fusarium sambucinum*), *Streptococcus vestibularis* СЛК-92 [46; 224; 227].

При изучении фекальной микрофлоры у здоровых новорожденных телят и больных диареями различной степени тяжести Fan с соавторами [463] установил, что в нормальном твердом кале высокое относительное содержание бактерий из семейств *Osllospiraceae*, *Christensenellaceae*, *Barnesiella* и рода *Lactobacillus*, в то время как в ненормальном кале содержалось больше таких бактериальных таксонов как *Negativicutes*, *Tyzzarella*, *Parasutterella*, *Veillonella*, *Fusobacterium* и *Campylobacter*. Исходя из полученных результатов, некоторые авторы указывают на важность разнообразной кишечной микробиоты для здоровья новорожденного теленка и предлагает расширить арсенал пробиотических

бактерий, за счет тех видов, которые ранее не были использованы для предотвращения диареи у телят [73; 253; 254].

Современные пробиотические препараты и пробиотические кормовые добавки для поросят как у нас в стране, так и за рубежом, включают следующие основные микроорганизмы: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. Plantarum*, *L. frumenti*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii*, *L. murinus*, *L. rhamnosus*, *L. zeae*, *L. paracasei*, *Bifidobacterium longum* ssp. *longum*, *B. animals*, *B. thermophilum*, *B. lactis*, *Bacillus subtilis*, *Bac. cereus* var. *toyoi*, *Bac. licheniformis*, *Bac. togoi*, *Streptococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Pediococcus acidilactici*, *Parabacteroides* spp., *Clostridium glycolicum*, *Sacharomyces cerevisiae* var. *bonlardii* [31; 35; 140; 160; 370; 431; 459]. Пробиотические средства могут состоять как из одного вида микроорганизма, так и консорциума. Вне зависимости от количества включенных в состав пробиотиков штаммов или видов, все они при регулярном применении однозначно позитивно влияют на микрoэкологические процессы в пищеварительном тракте поросят различного возраста [360].

Из последних разработок заслуживает внимание пробиотическая кормовая добавка «БОНАКА-АПК-N», состоящая из консорциума лактобацилл, бифидобактерий, пропионибактерий и молочнокислого стрептококка [144]. Данная кормовая добавка при назначении поросятам с первого дня рождения в течение 7–10 дней позволила к отъемному возрасту на 20 % сократить число случаев заболевания диареей, на 16 % – число смертельных исходов и на 24,7 % увеличить среднесуточный прирост.

Не менее популярными в скотоводстве и свиноводстве являются пребиотики и препараты органических кислот (подкислители). Если для получения положительного эффекта от применения пробиотиков требуется ряд условий, и, прежде всего, генетически закрепленная антагонистическая активность штаммов-пробионтов и их способность адаптироваться в кишечном тракте конкретных биологических объектов, то для получения положительного эффекта от пребиотиков и органических кислот необходима только тщательно выверенная и подо-

бранная схема применения. Поскольку данные вещества изначально способны создавать в кишечном тракте селективные условия для симбионтов и негативные для условно-патогенных и патогенных микроорганизмов вне зависимости от вида и возраста животных [37; 98; 142; 168].

В настоящее время основными хорошо известными пребиотиками являются неперевариваемые углеводы, включая фруктоолигосахариды (ФОС), инулин, галактоолигосахариды (ГОС), транс-галактоолигосахариды (ТОС), маннано-олигосахариды (МОС) клеточной стенки дрожжей и лактулоза. Большинство имеющихся в научной литературе данных о пребиотиках, применяемых животным, связаны с лактулозой, инулином, ФОС и МОС [70; 113; 370; 416].

В своей обзорной статье Zhang с соавторами [424] сообщает, что добавление ФОСов, ГОСов и МОСов в молозиво или молоко способствовало значительному ингибированию адгезии сальмонелл и кишечной палочки к эпителию кишечника, но при этом стимулировало колонизацию бифидобактерий и лактобацилл в толстой кишке, и, как следствие, улучшались показатели роста телят на этапе до и/или после отъема.

Samanta с соавторами [416] также сообщает, что включение олигофруктозы в заменитель молока телятам, приводило к снижению популяции фекальной кишечной палочки и общей анаэробной микрофлоры, в то время как популяция бифидобактерий возрастала. Этот эффект объяснялся благотворным влиянием, оказываемым потреблением пребиотика с последующей его ферментацией в толстом кишечнике телят. Введение олигофруктозы в рацион телят способствовало повышению прироста массы тела, эффективности переработки корма с уменьшением частоты диареи и более сформированному калу.

А. А. Мацинович с соавторами и В. В. Великанов с соавторами [243] сообщают о положительном лечебно-профилактическом эффекте применения лактулозы при жедудочно-кишечных заболеваниях у телят. Они отмечают, что пребиотик способствовал нормализации кишечного микробиоценоза, обменных процессов и перекисного окисления липидов в организме животных, что благотворно сказалось на росте и развитии молодняка. При использовании

лактолозы в схеме лечения телят сокращалась продолжительность и тяжесть течения диарей.

А. В. Балышев [8] и другие авторы опубликовали результаты применения лактулозосодержащих кормовых добавках при выращивании телят молозивного и молочного возраста. Первый автор применял добавку «Кумелакт» на основе медового экстракта семян тыквы с концентратом лактулозы и яблочной кислоты и «Лактумин» – на основе медового экстракта топинамбура с концентратом лактулозы и янтарной кислоты, из расчета 0,2 мл на 1 кг массы тела, начиная с 3–5-дневного возраста ежедневно в течение двух месяцев. Применение лактулозосодержащих кормовых добавок Лактумин и Кумелакт при выращивании телят оказал положительное влияние на состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта телят, что способствовало улучшению пищеварения и профилактике диареи. Второй автор применял добавку «Ветелакт» на основе лактулозы, лактозы и галактозы. Ветелакт добавлялся в молозиво и ЗЦМ один раз в сутки. Кормовая добавка позволила увеличить среднесуточный прирост массы у молозивных телят на 23 %, а молочных – на 21,6 % [213].

В свиноводстве в ряду кормовых добавок, предназначенных для предохранения животных от кишечных заболеваний и кормов от порчи, являются органические кислоты и препараты, созданные на основе этих кислот, получившие название «кормовые подкислители». Чаще всего используются муравьиная, пропионовая, молочная, масляная (чаще в виде солей и эфиров), лимонная, фумаровая и бензойная кислоты. Добавление этих кислот в рацион поросят-отъемышей продемонстрировало благоприятное воздействие на желудочно-кишечный тракт свиней, включая снижение частоты и тяжести диареи у поросят. Органические кислоты и их соли показывают многообещающие результаты в борьбе с кишечными заболеваниями и улучшении показателей роста свиней [131; 213; 240; 415; 431]. Независимо от вида органической кислоты, используемой в качестве кормовой добавки, эти вещества однозначно способствуют снижению частоты и тяжести диареи у поросят и улучшают производственные показатели обработанной группы по сравнению с группой отрицательного контроля [117; 457; 459].

Есть профилактическая схема, где пороссятам за 14 дней до отъема и в течение 14 дней после отъема применяли кормовую добавку Асид Лак в количестве 3 кг на тонну корма. Асид Лак состоит из сбалансированной смеси молочной (18–22 %), фумаровой (40,5–49,5 %), муравьиной (0,65–0,75 %), пропионовой (0,9–1,1 %) и лимонной (0,9–1,1 %) кислот и наполнителя – двуокись кремния (27,3–37,3 %). Авторы пришли к выводу, что эта кормовая добавка улучшает вкус комбикорма и повышает его поедаемость, при этом увеличивается усвоение питательных веществ и скорость роста животных, повышается резистентность организма, снижается заболеваемость и летальность. Кроме того, Асид Лак обеспечивает легкое переболевание заболевших пороссят [213].

С. Н. Тельнов с соавторами [143] продемонстрировали эффективность кормовой добавки «Гидрогемол» при колиэнтеротоксемии. Добавка состоит из кислотного гидролизата крови, бензойной (0,05 %), молочной (0,3 %) и янтарной (0,1 %) кислот. Автор применял гидрогемол добавляя его в комбикорм за 3 дня до отъема пороссят в дозе 2,5 мл на 1 кг массы животного и в течение 10 дней после отъема в дозе 4 мл на 1 кг массы животного 2 раза в день. Было установлено, что уровень заболеваемости пороссят постотъемной диареей снизился на 34,6 %, а смертность – в 6,8 раза, при этом среднесуточный прирост увеличился в 1,61 раза. Окупаемость кормовой добавки составила 14,9 руб. на 1 руб. затрат.

А. Г. Шахов с соавторами [235] описывают способ профилактики желудочно-кишечных болезней телят, заключающийся в использовании препарата Асид Лак, который представляет собой сбалансированную смесь органических кислот: молочной (18–22 %), фумаровой (40,5–49,5 %), муравьиной (0,65–0,75 %), пропионовой (0,9–1,1 %), лимонной (0,9–1,1 %) и носитель – двуокись кремния (27,3–37,3 %). Препарат давали телятам в течение первой недели жизни перорально по 15,0 г в виде водной взвеси. Результаты опыта показали, что заболеваемость телят, получавших Асид Лак, составила 50,0 % с длительностью течения болезни 3,6 дня, в то время как в контрольной группе заболело 83,3 % животных, при этом продолжительность их болезни составила 5,3 дня.

О. Ж. Хапцева с соавторами [98] сравнили эффективность применения на телятах «Лактиплюс в жировых микрокапсулах», «Асид Лак» и муравьиной кислоты. В качестве критериев использовали показатели сохранности, прироста и микробного пейзажа фекалий. В ходе исследований выявлено, что сохранность телят, получавших «Лактиплюс в жировых микрокапсулах» и «Асид Лак», была на 13,3 % выше, чем телят получавших муравьиную кислоту. В результате микробиологических исследований фекалий установлено, что у телят в возрасте от 3 до 30 дней количество *Lactobacillus* sp. и *Enterococcus* sp. заметно увеличилось в опытных группах, в то время как у телят контрольной группы наблюдался достоверно высокий уровень *Staphylococcus* sp., *E. coli* и *Proteus* sp. Наилучший эффект наблюдался у телят, в рацион которых входил «Лактиплюс в жировых микрокапсулах».

А. Я. Арушаняном и В. И. Тереховым были разработаны и изучены препараты для профилактики диарей у новорожденных телят – Гидрогемол и Гидрогемол-М [6; 112]. Первый содержит кислотный гидролизат крови животных, молочную и бензойную кислоту, а второй – дополнительно уксусную и янтарную кислоты. Гидрогемол и Гидрогемол-М показали высокую профилактическую эффективность, предохраняя в 72,3–77,3 % случаев новорожденных телят от диарей. Наибольшей эффективностью и окупаемостью обладает Гидрогемол-М.

Считается, что еще более широким защитным действием и фармакологическим эффектом в отношении предупреждения поражения кишечника поросят обладают синбиотики, которые состоят из про- и пребиотиков. Синбиотики могут быть либо взаимодополняющими, либо синергетическими. Взаимодополняющие (аддитивные) синбиотики состоят из пробиотика и пребиотика, выбранных независимо друг от друга, для оказания большей пользы хозяину через воздействие на автохтонные микроорганизмы. Синергетические синбиотики состоят из пребиотика, отобранного специально для выбранного пробиотика, чтобы усилить его действие в кишечнике [415; 431].

Классическим примером создания взаимодополняющего синбиотика является опыт Guerra-Ordaz с соавторами [361]. Автор установил, что введение лактулозы в корм поросятам после заражения их патогенным штаммом *E. coli*

(O149:K91:H10) привело к улучшению набора веса, увеличению количества лактобацилл и доли масляной кислоты в толстой кишке и уменьшению воспаления из-за снижения в сыворотке крови содержания основного белка острой фазы свиньи (Pig-MAP). Введение в корм *Lactobacillus plantarum* способствовало росту лактобацилл, модулировало ферментативную активность, уменьшало воспаление и улучшало функцию слизистой оболочки кишечника, а также демонстрировало тенденцию к уменьшению диареи. Применение синбиотической композиции, состоящей из лактулозы и *Lactobacillus plantarum*, привело к тем же эффектам наблюдаемых от применения в отдельности пребиотика и пробиотика.

О положительном эффекте применения синбиотика состоящего из пробиотического штамма *Lactobacillus plantarum* и ФОС сообщает Wang с соавторами [305]. Они изучили влияние синбиотика на показатели роста, иммунитет и микрофлору кишечника поросят-отъемышей. Исследование длилось четыре недели. В результате выяснилось, что поросята, получавшие с кормом синбиотик, имели более высокий прирост массы тела и потребление корма по сравнению с контрольной группой. При этом частота диареи у них была ниже. Кроме того, у подопытных поросят в плазме крови были более высокие концентрации IgA и IgG, а также увеличено количество молочнокислых бактерий в толстой кишке по сравнению с поросятами контрольной группы.

Для устранения и профилактики иммунодефицитов и стресса новорожденному теленку сразу после приема молозива рекомендуется применять иммуномодуляторы или адаптогены [93; 122; 226; 333]. В ряду известных средств данного назначения стоят следующие препараты [182; 213]:

– настойка элеутерококка – препарат получен путем экстрагирования биологически активных компонентов растения 33%-м спиртом-ректификатом. Препарат обладает выраженным стимулирующим действием на центральную нервную систему, что обеспечивает устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды. Применяется внутрь с небольшим количеством воды в дозе 3–5 мл три раза в день за 30 мин до кормления;

– эраконд – экстракт из травы люцерны, представляет собой смесь природных химических соединений органического и неорганического состава. Препарат стимулирует репаративные процессы, обладает гепатопротекторным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Применяется внутрь по 200–300 мл в виде 10%-го водного раствора один раз в день в течение 5–7 дней;

– пирогенал – липополисахарид, выделенный из клеток *Salmonella typhi* методом ферментного гидролиза с последующей горячей фенольной экстракцией. Препарат активизирует ретикуло-эндотелиальную, гипоталамо-гипофизарную и фибринолитическую систему. Противопоказан к применению при повышенной температуре тела. Применяется внутримышечно 1 раз в день в возрастающих дозах. Начальная доза 2,5 мкг, в последующие дни доза увеличивается на 2,5–5 мкг. Курс 5–10 инъекций;

– гликопин – представляет собой синтетический препарат природного происхождения (аналог гликопептидов клеточных стенок бактерий) N-ацетил-глюкозаминил-N-ацетилмуромил-аланин-D-изоглутамин, обладающий иммуностимулирующими, противоинфекционными, противовоспалительными и адъювантными свойствами. Препарат повышает общую сопротивляемость организма животного к патогенным факторам за счет активации клеток фагоцитарной системы иммунитета. Применяется внутримышечно в дозе 20 мкг/кг один раз в сутки 3–5 дней подряд;

– иммунофан (тимогексин) – синтетический гексапептид, модифицированный аналог гормона иммунной системы. Препарат обладает мощным иммунорегулирующим действием в отношении клеточного и гуморального иммунитета. Применяется подкожно в дозе 1–1,5 мкг на 1 кг массы тела. Курс 2–3 инъекции с интервалом три дня;

– АСД (фракция 2) – продукт сухой перегонки мясокостной муки, содержит низкомолекулярные органические и неорганические азотистые соединения. Оказывает нейротропное холиномиметическое действие на центральную и вегетативную нервную систему. Применяется внутрь в виде водного раствора перед кормлением в дозе 5 мл в 100 мл воды один раз в сутки в течение 5 дней

подряд или подкожно в виде 1%-го водного раствора в объеме 3 мл один раз в день, 2–3 дня подряд.

М. А. Старосёлов с соавторами [23] описывает применение препарата «Баксин-вет», представляющего собой биомассу инаktivированных галобактерий непатогенного штамма *Halobacterium halobium* 353Г1. Препарат содержит комплекс биологически активных соединений (нуклеиновые кислоты, биофлавоноиды, каротиноиды, бактериородопсин, пептиды, витамины, микроэлементы) и позиционируется как иммуномодулятор. Баксин-вет задавали в два этапа: с первого по 15-й день жизни в дозе 0,35 г /гол. один раз в сутки вместе с молозивом и молоком, а с 15-го по 30-й день жизни – в дозе 0,4 г/гол. с молоком. Применение препарата позволило уменьшить на 58,4 % количество заболевших животных диареями и на 33,3 % сократить продолжительность их лечения. Среднесуточный прирост массы тела у телят, получавших Баксин-вет, был на 16,1 % выше, чем у сверстников не получавших препарат.

Н. Ю. Басова с соавторами [22] сообщают об испытании нового иммуномодулятора имагтин в сравнении с иммунофаном. При оценке влияния имактина на рост и развитие телят было установлено, что применение препаратов имагтин и иммунофан увеличивает среднесуточный прирост живой массы на 21,3 % и 10 % соответственно по сравнению с интактными животными контрольной группы.

Таким образом, грамотное сочетание организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий с приемами ветеринарной диетологии и нутрициологии могут стабильно гарантировать благополучие ферм по эшерихиозу и другим кишечным болезням новорожденных телят и поросят.

1.4.2 Современная стратегия вакцинопрофилактики

Вакцинами называют иммунобиологические препараты, предназначенные для создания активного специфического иммунитета. Применяют их главным

образом для профилактики, но иногда используют для лечения инфекционных болезней [81].

Существующие сейчас подходы к иммунологическим методам борьбы с эшерихиозом животных сконцентрированы на обеспечении пассивного иммунитета новорожденным путем парентеральной вакцинации маток для стимулирования выработки колостральных антител. Иммунитет у молодняка всех видов млекопитающих вначале зависит от полученных из молозива матери антител для ранней защиты от инфекций, поскольку собственная иммунная система не готова к полноценному функционированию, хотя способность синтезировать антитела может иметь место и до рождения [26; 43; 44; 86; 299; 367; 404].

В последние годы в мировом научном сообществе было использовано несколько подходов для разработки эффективных вакцин против инфекций *E. coli* у телят и поросят [68; 96; 298; 300; 380; 411; 425].

Инактивированные цельноклеточные вакцины представляют собой суспензию клеток *E. coli*, которые полностью обезврежены и не могут вызывать заболевание у биологического объекта, но могут стимулировать иммунный ответ. Живые ослабленные вакцины включают ослабленные или аттенуированные штаммы *E. coli*, которые могут длительное время сохраняться в организме, не вызывая заболевание у животных и стимулировать иммунный ответ. Субъединичные вакцины основаны на использовании очищенных антигенов, таких как белки, пептиды или полисахариды эшерихий. В отдельную группу можно отнести ДНК-вакцины, которые разрабатываются с использованием плазмид и содержат генетический материал, кодирующий антигены *E. coli*. Эти подходы в вакцинологии демонстрируют разнообразие стратегий, используемых мировым научным сообществом для разработки эффективных вакцин против эшерихиозных инфекций у телят и поросят. Поиск наиболее эффективных вакцин и стратегий иммунизации в отношении эшерихиоза телят и поросят ведутся постоянно как у нас в стране, так и за рубежом [149; 156; 163; 286; 287; 298; 327; 347; 375].

Корпускулярные (цельноклеточные) инаktivированные (убитые) вакцины довольно широко используют в ветеринарной практике для профилактики бактериальных инфекций, в том числе колибактериоза (колидиареи и колисепсиса) у сельскохозяйственных животных. Реже убитые корпускулярные вакцины используют в медицине [82; 135; 399].

В основе создания инаktivированной цельноклеточной вакцины лежит подбор эпизоотических штаммов, обладающих распространенными соматическими и адгезивными антигенами, их культивирование и инаktivация с последующей адсорбцией на адьюванте. Например, формолвакцина поливалентная гидроокись-алюминиевая против колибактериоза (эшерихиоза) поросят, телят и ягнят. Представляет собой взвесь эшерихий и адгезивных антигенов, инаktivированных формалином и адсорбированных на гидроокись алюминии (ГОВА вакцина). Вакцину выпускают в двух вариантах: первый вариант вакцины содержит эшерихии серогрупп О6, О9, О76, О138, О139, О141, О147, О149 или эшерихии тех же серогрупп, обогащенные адгезивным антигеном К88 (Коли-Вак К88) и предназначен для профилактики колибактериоза у поросят; второй вариант вакцины включает эшерихии серогрупп О6, О9, О15, О20, О26, О41, О55, О56, О76, О101, О115, О117, О119 или эшерихии тех же серогрупп, обогащенные адгезивным антигеном К99 (Коли-Вак К99), для профилактики колибактериоза у телят и ягнят [130].

По мере открытия новых патотипов кишечной палочки в ветеринарной практике стали широко использоваться многокомпонентные вакцины, содержащие соматические, капсульные, адгезивные антигены, а также энтеротоксины [213; 232; 324].

Также исследования были сосредоточены на конструировании множественных слитых белков адгезина для иммунизации человека или животного [16; 375; 477]. Хотя опосредованная адгезином колонизация имеет решающее значение в патогенезе эшерихиоза, энтеротоксины как прямые факторы вирулентности, вызывающие заболевания, также могут быть вовлечены в сам процесс колонизации [45]. Одним из примеров такой вакцины для свиней могут служить разработки Всесоюзного государственного научно-контрольного

института ветеринарных препаратов, в соответствии с которыми предложена вакцина, содержащая штаммы эшерихий восьми серогрупп (O8, O9, O78, O138, O139, O141, O147 и O149), наиболее часто поражающие поросят. Штаммы содержат капсульные антигены K30, K80, K43, K81, K85, K88, K91, способны продуцировать гемолизин, термостабильные и термолабильные токсины [213].

М. К. Пирожков с соавторами [130] разработали вакцину на основе соматических (O78, O141), адгезивных (K88, K99, 987P, F41), капсульных (K80, K87) антигенов, термолабильного и термостабильного анатоксинов, обеспечивающих в крови иммунизированных животных синтез специфических антител, ингибирующих основные процессы развития коли-инфекции – колонизацию возбудителя в кишечнике животных и нейтрализацию эндо- и энтеротоксинов.

Также была разработана вакцина Вероколивак, которая является усовершенствованным аналогом вакцины Коли-Вак и содержит, помимо вышеперечисленных протективных антигенов, VT1 и VT2 анатоксины [29; 44; 105; 213].

Однако избыток соматических антигенов потенциально приводит к расслоению иммунных реакций хозяина от нацеливания на факторы вирулентности и вызывает сбой иммунитета, что приводит к низкому специфическому иммунному ответу и, следовательно, низкой эффективности вакцинации против эшерихиоза.

Живые аттенуированные вакцины для профилактики эшерихиозной инфекции привлекают исследователей простотой и дешевизной биотехнологического процесса их производства, а также возможностью как перорального, так и парентерального применения.

Так, П. В. Чулков [232] изучал иммуногенность живой вакцины из штамма *E. coli* K-18 и *E. coli* K-20 в соотношении 1:1. Вакцинация животных осуществлялась подкожно в дозе $1,5 \times 10^9$ микробных клеток. Иммунизация стельных коров в хозяйствах, неблагополучных по колибактериозу, позволила предохранить от заболевания 95,7 % телят, полученных от них.

С 2008 г. в Канаде компанией Prevtex microbia выпускается живая вакцина против ПОД поросят, вызванного ЕТЕС F4+, под названием Coliprotex – это пероральная живая вакцина, содержащая естественные авирулентные *E. coli*,

которые экспрессируют фимбрии F4, но не вырабатывают токсины. В свою очередь, компания Elanco Animal Health Inc. (США) разработала живую вакцину Колипротек F4/F18 (Coliprotec® F4/F18), которая предназначена для профилактики эшерихиоза у поросят-отъемышей, вызванного ЕТЕС с адгезивными антигенами F4(K88) и F18. В вакцине используются нетоксигенные авирулентные штаммы *E. coli* O8:K87 и O141:K94 [213].

В зарубежных научных публикациях есть сведения о том, что свиней вакцинировали Coliprotec® F4/F18 на следующий день после отъема и заражали на седьмой и двадцать первый день после вакцинации либо F4-положительным штаммом (положительным по STa, STb, LT, East-1 и F4ac), либо F18-положительным штаммом (положительным по STb, LT, East-1, STX 2e и F18ab). По сравнению с невакцинированным контролем, у вакцинированных поросят диарея была менее продолжительной и менее тяжелой и наблюдалась в течение 4–7 дней после заражения [411; 420].

Большинство сообщений о случаях диареи и отечной болезни у свиней в Дании связаны с ЕТЕС F4 либо F18. Однако в других странах, как, например, в Китае, эти фимбрии не часто ассоциировались с ЕТЕС. В Нидерландах [450], Японии [382] и Швеции [484] фимбрии редко ассоциировались с ЕТЕС у поросят, что свидетельствует о том, что вакцина, основанная исключительно на адгезинах, может быть менее эффективной, и, следовательно, необходимо разрабатывать вакцины, содержащие антигены других факторов патогенности.

Поскольку фимбрии и энтеротоксины ЕТЕС генетически и иммунологически гетерогенны, иммунитет, индуцированный одной фимбрией или энтеротоксином, не может защитить от гетерологичных штаммов ЕТЕС. Следовательно, поливалентная вакцина, которая нацелена как на фимбрии, так и на энтеротоксины, должна быть приоритетной в борьбе с ПОД у свиней [331].

Для получения живой ослабленной вакцины в некоторых исследованиях сообщалось об экспрессии мультивалентного антигена слияния адгезии и анатоксина в авирулентном изоляте *E. coli*. Недавняя работа показала, что одновременная пероральная иммунизация мышей живой рекомбинантной аттенуированной

E. coli (экспрессирующей слитый иммуноген LTR192G-STaA13Q и LTR192G-STb) может представлять собой эффективный носитель для доставки вакцины пероральным путем [399]. Преимуществом является то, что такой рекомбинантный вектор *E. coli* может доставлять антигены иммунной системе в течение длительного периода.

Исследование Ruan и Zhang [438] показало, что трехсторонний мономер адгезин-токсин (FaeG-FedF-LT(A2-B)) вызывает выработку защитных антител. В своем исследовании они сконструировали новое слияние адгезин-анатоксин, экспрессировали его в виде холотоксин-структурированного антигена 1A:5B (1FaeG-FedF-LT(192A2):5LT(B)) в авирулентном штамме *E. coli* и оценили его вакцинный потенциал в исследованиях по заражению свиней. Эти результаты показали, что слияние антигена 1FaeG-FedF-LT(192A2):5LT(B) индуцировало защитный антиадгезиновый и антитоксиновый иммунитет у свиней, что свидетельствует о потенциальной возможности разработки живой аттенуированной вакцины против ПОД. Кроме того, презентация антигенов в структуре холотоксина для воздействия на местный иммунитет слизистой оболочки хозяина может быть использована при разработке вакцины против других кишечных заболеваний.

В тоже время, поскольку STb является ведущим фактором патогенности, обуславливающим развитие ПОД, включение этого антигена в вакцину, несомненно, является обязательным. Исследование показало, что живой штамм *E. coli* с геном LTR192G-STb, экспрессирующим слияние фимбрии F4ac с токсинами, обеспечивает защитный иммунитет против заражения штаммом ЕТЕС, положительным по F4ac/LT/STb [386; 485]. У поросят, иммунизированных данным штаммом перорально титры анти-LT IgA и анти-F4ac sIgA в смывах с фекалий и кишечника были значительно более высокими по сравнению с теми поросятами, которые были иммунизированы внутримышечно [351].

Живые аттенуированные бактерии являются привлекательными вакцинными векторами, которые могут вызывать иммунные реакции хозяина на чужеродные антигены. Бактериальные векторы могут имитировать естественную инфекцию и, следовательно, взаимодействовать со слизистыми, гуморальными

и клеточными компартментами иммунной системы. Поскольку бактериальные векторы реплицируются внутри хозяина, есть надежда, что они обеспечивают длительное воздействие антигена, потенциально усиливая тип и уровень иммунного ответа. Помимо этого, бактерии естественным образом обладают иммуностимулирующими молекулами, такими как ЛПС и жгутики, которые могут стимулировать иммунные реакции [164; 329; 347; 483].

В настоящее время актуальным направлением является разработка *субъединичных вакцин* против эшерихиоза, в состав которых входят структурные единицы (субъединицы) факторов патогенности *E. coli*, которые играют важную роль в развитии болезни. Чаще всего эти вакцины содержат изолированные адгезины и/или инаktivированные энтеротоксины. Они стимулируют образование антифимбриальных и антитоксических антител, блокирующих рецепторы и энтеротоксины патогенных *E. coli*, вне зависимости от штаммовой принадлежности [149; 423; 439].

Характерным примером вакцины, содержащей адгезивные антигены и энтеротоксины, является разработка Н. А. Соколовой с соавторами [171], в которой использовались фимбриальные антигены K99, K88ab, K88ac, K88ad, F41, Att25, 987P и конъюгат ТЛ и ТС токсинов эшерихий. С целью получения колострального иммунитета у новорожденных животных иммунизируют свиноматок за 1–1,5 мес до родов двукратно внутримышечно с интервалом 14–16 дней.

На отечественном рынке представлена инаktivированная вакцина против эшерихиоза свиней «Веррес-коли», которую выпускает ООО «Ветбиохим». Она представляет собой суспензию из инаktivированных формалином клеток *E. coli* с адгезивными антигенами K88, K99 и F41 [68]. Из зарубежных вакцин, предназначенных для профилактики эшерихиоза у поросят, представляет интерес «Неоколипор» фирмы «Мериал» (Франция). Это суспензия культур разных штаммов эшерихий (рекомбинантный штамм *E. coli* K88 (F4ab, F4ac, F4ad); рекомбинантный штамм *E. coli* K99 (F5); полевой штамм *E. coli* 987P (F6); полевой штамм *E. coli* F41) [213; 400]. В свою очередь, компания «MSD Animal Health» (США) рекомендует для специфической профилактики колибактериоза

поросят инаktivированную вакцину Порцилис Коли (Porcilis® Porcoli DF). Она предназначена для пассивной иммунизации поросят через молозиво вакцинированных свиноматок против вызываемого *E. coli*, неонатального энтеротоксикоза и содержит фимбриальные адгезины F4ab (K88ab) – не менее $9,0 \log_2$, F4ac (K88ac) – не менее $5,4 \log_2$, F5 (K99) – не менее $6,8 \log_2$, F6 (987P) – не менее $7,1 \log_2$ и LT-токсоид – не менее $6,8 \log_2$ [213].

Следующим направлением создания субъединичных вакцин можно считать разработку анатоксинов – препаратов, содержащих бактериальные экзотоксины, инаktivированные в результате контролируемой обработки химическими агентами. Для возбудителя эшерихиоза экзотоксины являются факторами, определяющими основной симптомокомплекс заболевания [34; 104; 148; 221; 384].

В. В. Масанская и В. Н. Макарова предложили эшерихиозный анатоксин. Он представляет собой фильтрат культур *E. coli* серотипов O141:K88ac; O139:K88ac; O138:K88ac. Парентеральное двукратное введение поросятам-отъемышам, начиная с 25–30-дневного возраста, позволило существенно снизить заболеваемость ПОД и падёж [195].

А. А. Евглевский с соавторами [108] также разработали способ получения колибактериозной анатоксин-вакцины, включающий выращивание эшерихий на питательной среде, детоксикацию экзо- и эндотоксинов в суспензии с автоклавированными эшерихиями раствором формалина и последующую сорбцию на ГОА. При испытании данной анатоксин-вакцины на супоросных свиноматках и стельных коровах было установлено, что у животных не было аборт, в местах введения вакцины не отмечено некротических поражений, а у телят и поросят, полученных от вакцинированных маток, не отмечено диареи. Среди вакцинированных телят и поросят через 15 сут после заражения не отмечено признаков эшерихиоза.

Аналогичная работа по использованию инаktivированных экзотоксинов в профилактике эшерихиоза у телят и поросят была начата Я. М. Караевым [50], который разработал и исследовал эшерихиозный анатоксин (ЭА). Отличительной особенностью его анатоксина от анатоксинов других авторов являлось

наличие не только обезвреженных форм термолабильного и термостабильного токсинов, но и инаktivированного шигаподобного токсина. При изучении ЭА на лабораторных животных автором было установлено, что анатоксин в значительной мере стимулирует фагоцитоз и гуморальное звено иммунитета, при этом специфические антитела в сыворотке крови хотя и появляются, однако их уровень незначителен, а время циркуляции непродолжительно [48; 49].

В свою очередь, в зарубежных источниках есть попытки разработать единый анатоксин – слитый белок, содержащий фрагменты трех энтеротоксинов (STa-LTB-STb, сокращенно SLS). В эксперименте по оценке защитного эффекта SLS было установлено, что смертность подопытных животных после иммунизации была значительно ниже, чем в контрольных группах ($P < 0,01$) после внутрибрюшинного заражения ETEC [366].

В исследовании W. Zhang с соавторами [485] был использован LT-анатоксин (LT192), полученный из свиного штамма ETEC, путем слияния зрелого STb-пептида с LT192 с целью повышения иммуногенности STb и последующего применения в качестве вакцины. Испытания на животных показали, что слияние LT192 с STb усиливает иммуногенность вакцины.

Эффективность новой вакцины против неонатальной диареи у поросят, содержащей очищенные фимбрии F4ab, F4ac, F5, F6 и детоксифицированный LT, была проверена в контролируемых экспериментах. У вакцинированных свиноматок наблюдались значительные уровни титров антител в молозиве и сыворотке. Защитная эффективность была высокой, поскольку у 66,7–87,5 % поросят от вакцинированных свиноматок после заражения не было клинических признаков [359].

В свою очередь Н. Zhang с соавторами [424] в своем исследовании получили слитый белок энтеротоксина SLS (STa-LTB-STb) с основными фимбриальными антигенами F4ac и F5 в качестве нового мультивалентного вакцинного кандидата. В результате было обнаружено, что титры IgG в сыворотке, а также в молозиве у всех вакцинированных свиноматок были значительно выше, чем в контрольной группе. Более того, в ответ на заражение ETEC F41⁺ ни у одного

из поросят, получавших вакцину-кандидат, диарея не наблюдалась, тогда как у 30 % поросят контрольной группы отмечали случаи заболевания.

Также ряд авторов установили, что для повышения эффективности вакцин, предназначенных для профилактики ПОД у поросят, целесообразно в их состав вводить штаммы, продуцирующие антиген адгезии F18, либо обогащать вакцину химически очищенным антигеном F18. Однако наиболее перспективным направлением является разработка специальной вакцины для профилактики ПОД, основу которой должны составлять антигены адгезии K88, F18 и LT [152, 379].

Поскольку F4/LT/STb и F18/STa/STb/STX 2e являются преобладающими патотипами ЕТЕС, вызывающими ПОД у поросят-отъемышей [359; 379], Lu с соавторами [366] недавно исследовали новую вакцинологическую платформу на основе эпитопов и структур под названием *multiepitope-fusion-antigen* (MEFA) для разработки вакцины. Так как вакцина на основе MEFA не содержит соматических антигенов (соматические белки, ЛПС), вероятность возникновения сопутствующих побочных эффектов у такой вакцины минимальна. Авторы продемонстрировали, что слитые белки с анатоксином или эпитопом токсина безопасны, иммуногенны и защищают от энтеротоксичности и цитотоксичности ЕТЕС. MEFA-индуцированные антитела ингибировали прикрепление бактерий с фимбриями F4 или F18 к клеткам кишечника свиньи, а также нейтрализовали токсичность LT, STb, STa и STX 2e. Эти результаты убедительно свидетельствуют о перспективности использования MEFA при разработке вакцины против ПОД и доказали, что нейтрализующие эпитопы из детерминант вирулентности ЕТЕС могут быть интегрированы в единый иммуноген.

Однако, по мнению Xu с соавторами [276] иммунный ответ при использовании антигена MEFA не идеален, поскольку эти вакцины не направлены против ST₁, который является наиболее важным токсическим фактором, вызывающим диарею у поросят. Если проигнорировать этот важный фактор, то вакцина не будет эффективной в профилактике заболевания и приведет к значительным экономическим потерям. Автор создал генно-инженерный штамм ЕТЕС K88ac-

K99-ST₁-LT_B, который имеет основные факторы адгезии (K88ac и K99) и энтеротоксины (ST₁ и LT_B). Готовая четырехвалентная генноинженерная инактивированная вакцина K88ac-K99-3ST₁-LT_B способна предотвращать диарею, вызванную ETEC. Результаты испытаний показали, что вакцина K88ac-K99-3ST₁-LT_B является идеальной вакциной для предотвращения диареи у поросят-отъемышей и эффективного контроля возникновения диареи у новорожденных поросят и получения значительных экономических и социальных выгод.

Также в литературе есть сообщения о разработках субъединичных вакцин на основе интимина и протеинов системы III типа секреции EHEC. Иммуногенные и протективные свойства адгезина интимина и ведущих протеинов системы T3SS (EspA, EspB, Tir и других антигенов), были изучены не только на лабораторных, но и сельскохозяйственных животных: крупном рогатом скоте, свиньях, овцах и козах – основных естественных носителях STEC. Так, в работах Potter и Peterson с соавторами было показано, что внутримышечная или подкожная иммунизация бычков супернатантами, содержащими два (EspA и Tir) или четыре протеина (EspA, EspB, Tir и интимин), индуцировали у них образование высоких титров специфических IgG в сыворотке крови. Иммунизированные животные были лучше защищены от естественной колонизации EHEC-штаммом *E. coli* O157:H7 по сравнению с контрольными (неиммунизированными) животными. Они реже инфицировались, а в случае заражения их фекалии содержали значительно меньшее количество клеток *E. coli* O157:H7 по сравнению с невакцинированными животными [148; 149].

В свою очередь главным патогенетическим фактором STEC-штаммов, являются продуцируемые ими шига-токсины STX 1 и STX 2, обладающие нефро-, цито-, энтеро- и нейротоксичностью [399]. В свиноводстве субъединичная вакцина «Веровед» (Испания), содержащая в своем составе шигатоксин, применяется против отечной болезни поросят. Каждая прививная доза (1 мл) препарата содержит рекомбинантный веротоксин STX 2e. Вакцинируют поросят, начиная с 2-суточного возраста [68].

Проведенный анализ экспериментальных работ, осуществленных на животных моделях, показывает, что успешная защита телят и поросят от эшерихиозной инфекции достигается применением различных перечисленных выше типов вакцин. Тем не менее, по мнению многих авторов, субъединичные рекомбинантные вакцины являются наиболее перспективными по степени изученности, безопасности, эффективности, технологической доступности и возможности создания различных по составу продуктов исходя из производственной необходимости. Состав иммуногенных детерминант таких вакцин может быть оперативно изменен в зависимости от типа и назначения разрабатываемого препарата, от эпидемической ситуации и от ожидаемого иммунного ответа на его применение: формирование антитоксического или антибактериального иммунного ответа [148].

Ассоциированные вакцины. При смешанных кишечных инфекциях трудно определить ведущую роль того или иного агента, поэтому наиболее эффективным средством профилактики таких болезней являются комбинированные вакцины, включающие антигены различных патогенов.

В настоящее время подобные вакцины применяют для профилактики респираторных и желудочно-кишечных болезней молодняка крупного рогатого скота во многих странах мира. К ним относятся вакцины Biopoligen-HS (Biogenesis, Аргентина); Trivirus P Som (ISG, Аргентина); Rinovac 4 (ImmunoVet, Испания); Bovilis Bovipast/Bovigrip, Bovilis Lactovac (Intervet, Голландия); TRIVACTON 6 (Rhone Merieux, Франция); SCOURGUARD 3 (Pfizer, США) и др. [213].

В нашей стране ООО «Ветбиохим» выпускает вакцину против вирусной диареи, рота-, коронавирусной болезни и эшерихиоза телят (КОМБОВАК-К), которая изготовлена из инаktivированных производственных штаммов вирусов – возбудителей рота-, корона- и вирусной диареи, протективных антигенов эшерихий с соматическими (O9, O78, O115), капсульными (K80, K30), адгезивными (K99, F-41) антигенами и термостабильных и термолабильных инаktivированных энтеротоксинов. Вакцина КОМБОВАК-К при применении глубоко-

стельным коровам и своевременной выпойки молозива новорожденным телятам, позволяет снизить заболеваемость новорожденного молодняка желудочно-кишечными болезнями в среднем с 68 до 23 % (то есть в 3 раза), а гибель и выбраковку – с 8,6 до 3,2 % (в 2,7 раза) [18; 244].

Бовилис® Ротавек Корона («MSD Animal Health», США) применяется для активной иммунизации стельных коров и нетелей с целью увеличения уровня антител к антигену F5 (K99) *E. coli*, ротавирусу и коронавирусу. В свою очередь «Zoetis Inc.» предлагает вакцину Скоугард 4КС (ScourGuard 4 КС) для профилактики корона- и ротавирусной инфекций, колибактериоза и клостридиоза у телят.

Компания Boehringer Ingelheim (Германия) представила вакцину Фенковис® (Fencovis®), лицензированную для предотвращения диареи у телят. Препарат показан для активной иммунизации беременных телок и коров с целью стимулирования выработки антител против ротавируса, коронавируса и адгезина *E. coli* F5 (K99), что приводит к пассивной иммунизации телят против диареи новорожденных [213].

Для специфической профилактики эшерихиоза и клостридиозов в свиноводческих хозяйствах ООО «Ветбиохим» производится вакцина против эшерихиоза и клостридиозов свиней инактивированная – Веррес-Коликлост. Вакцина вызывает формирование иммунитета к эшерихиозу и клостридиозу, обусловленному *C. perfringers* тип-С и *C. novyi (oedematiens)* тип В, через 12–14 дней после повторного введения, который сохраняется не менее 6 мес. Колостральный иммунитет у поросят, полученных от иммунизированных животных, сохраняется до 20 сут.

Этой же компанией производится вакцина против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиоза поросят ассоциированная, изготовлена из анатоксина *C. perfringers* типа С (≥ 10 ME) и протективных адгезивных антигенов *E. coli* K88 (8 %) и K99 (8 %), инактивированных формалином (0,3 %) и адсорбированных на ГОА (20 %). Вакцину применяют для иммунизации супоросных свино-

маток в хозяйствах, неблагополучных по анаэробной энтеротоксемии (дизентерии) и эшерихиозу поросят [68].

Компания Laboratorios Hipra, S.A. (Испания) производит вакцину мультивалентную против колибактериоза, некротического энтерита новорожденных поросят и внезапного падежа свиноматок, вызванного *C. novyi*. Вакцина изготовлена из фимбриальных адгезинов F4ab, F4ac, F5, F6 и LT энтеротоксина *E. coli*, анатоксинов *C. perfringens* тип С и *C. novyi* тип В. Вакцина вызывает формирование иммунитета у свиноматок и ремонтных свинок к колибактериозу и некротическому энтериту через 21 сут после однократного применения продолжительностью 4 мес. Колостральный иммунитет у поросят, полученных от иммунизированных свиноматок, сохраняется 2 мес (в течение 14 сут после отъема).

Американская компания MSD Animal Health предлагает иммунобиологический лекарственный препарат для ветеринарного применения (вакцину) Порцилис® ColiClos, которая вызывает формирование активного иммунитета у свиноматок с последующим формированием пассивного иммунитета у потомства к энтеротоксикозу (эшерихиозу) и к энтериту, в том числе некротическому (клостридиозу), вызванному токсоидом *C. perfringens* тип С [213].

Также большой популярностью в нашей стране пользуется вакцина, ассоциированная инактивированная против колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейной инфекции молодняка сельскохозяйственных животных и пушных зверей (ОКЗ, ЗАО «Уралбиовет», Екатеринбург). Действующим началом вакцины являются антигенные комплексы эшерихий, сальмонелл, клебсиелл, протеев, которые вызывают выработку у иммунизированных животных специфических антител. Иммунитет у животных развивается через 2 нед и сохраняется в течение 6 мес [241; 242].

Кроме того, известна вакцина, ассоциированная против диареи телят (патент РФ на изобретение № 2035916 от 17.06.1993), которая содержит смесь микробных суспензий энтеробактерий *E. coli* O9:K99, *E. coli* O138:K88, *E. coli* 200, *Salmonella typhimurium* 195, *S. dublin* 196, *S. enteritidis* 197, *Klebsiella*

pneumoniae 201, 202, *Proteus vulgaris* 198 и *P. mirabilis* 199, инаktivированных этанолом и депонированных на ГОА. Данная вакцина предназначена для специфической профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейной инфекции у телят.

Разработана ассоциированная вакцина против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиоза поросят (патент РФ на изобретение № 2129441 от 10.12.1997), которая содержит клостридиозный компонент, представленный суспензией клеток и В-токсином штамма *Clostridium perfringens* типа С N3, а также сложный эшерихиозный компонент, включающий набор соматических (O78, O141), адгезивных (K88, K99, 987P, F41), капсульных (K80, K87) антигенов и термостабильный и термолабильный анатоксины в соотношении 1:1, инаktivированные формалином, с добавлением ГОА. Данная вакцина обеспечивает широкий спектр иммуногенности против энтеротоксемии и эшерихиоза [213].

Д. А. Евглевский с соавторами [108] разработали колисальмонеллезную анатоксин-вакцину, которая включает инаktivированные культуры патогенных эшерихий и сальмонелл. Автор отмечал безвредность, протективную и иммуногенную активность колисальмонеллезной анатоксин-вакцины при подкожном и энтеральном введении животным.

Заключение по литературному обзору

Эшерихиоз у телят и поросят регистрируется во всем мире, в отношении возбудителя болезни проводятся специальные мероприятия, разрабатываются новые вакцинные и антимикробные препараты, однако полностью эту патологию взять под контроль не удастся. Это обстоятельство объясняется, с одной стороны, чрезвычайно широким распространением возбудителей желудочно-кишечных инфекций, а с другой, разнообразием новых патотипов и факторов патогенности возбудителя эшерихиоза.

Этиологический профиль эшерихиоза разнообразен и включает множество биологических вариантов, обладающих определенным набором факторов патогенности, позволяющим объединять их в определенные патотипы. Наряду с основными патологическими вариантами кишечной палочки все большую актуальность получают эшерихии и их серотипы, которые ранее не считались главными участниками инфекционного процесса у телят и поросят, либо их не регистрировали.

Использование современных методов диагностики эшерихиоза позволяет своевременно и быстро проводить идентификацию возбудителя с определением его биологических свойств и патогенного потенциала, что дает новые сведения для понимания патогенеза эшерихиоза. Однако в ряде случаев набор факторов патогенности может быть таким, что его обладателя становится трудно идентифицировать и определить принадлежность к конкретному патотипу. Учитывая это обстоятельство, для того чтобы профилактика эшерихиоза была эффективной, она обязательно должна базироваться на двух основных направлениях: первое – это создание неблагоприятных условий для селективного отбора и размножения патогенных *E. coli* в организме животных за счёт технологических приёмов, ветеринарно-санитарных мероприятий и фармацевтических средств, а второе – обеспечение специфической защиты от ключевых факторов патогенности возбудителя.

Как известно основным условием для создания высокоиммуногенных вакцин против эшерихиоза является соответствие антигенной структуры вакцинных препаратов, антигенной структуре факторов патогенности эшерихий, обуславливающих поражение и развитие патофизиологических процессов. Эффективная вакцина должна обеспечить формирование достаточно продолжительного и напряженного иммунного ответа, направленного на нейтрализацию ведущего фактора(ов), запускающего механизм патогенетического действия, проявляющегося либо поражением кишечного тракта в виде развития диареи, либо общим токсическим действием, сопровождающимся нарушением функций

различных систем организма. Это в первую очередь касается различных экзотоксинов *E. coli*. Однако в иммунногенном плане эшерихиозные экзотоксины недостаточно сильны и требуют совместного использования с адъювантами. Разработка вакцин, ориентированных только на выявленные пилевые факторы адгезии, видится малоперспективной, поскольку обнаружено достаточно большое количество патовариантов *E. coli*, не обладающих известными фимбриями или вообще не обладающими фимбриальными адгезинами. Ориентир на живые вакцины с аттенуированными или генноизмененными штаммами также под вопросом, поскольку нет полной гарантии, что в организме животного особенно при пероральном введении не произойдет обратная реверсия, или генетический обмен, или потеря измененного гена. Поэтому все эти моменты предопределяют проведение работ над созданием эффективной вакцины при эшерихиозе телят и поросят.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в период с 2008 по 2024 гг. в ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» на кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики. Исследования по изучению влияния инактивированных токсинов кишечной палочки на иммунную систему лабораторных животных проводили на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии университета. Изучение и подбор адъювантных комплексов, повышающих иммуногенные свойства колианатоксина, выполняли в лаборатории микробиологии Центра биотехнологий ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ. Гистологические исследования проводили в патоморфологическом отделе Краснодарской межобластной ветеринарной лаборатории. Экспериментальная часть исследований выполнена в скотоводческих и свиноводческих хозяйствах Краснодара и Краснодарского края: УОХ «Кубань» г. Краснодара, НПХ «Кореновское» (филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П. П. Лукьяненко») Кореновского района, АО «Приазовское» Славянского района. Схема исследований представлена на рисунке 1.

В работе использовали токсигенные штаммы *E. coli* KubGAU B-533 (O141:K99, LT, ST-II и HLY E), KubGAU B-546 (O111:F41, RTX α -гемолизин, LT, ST-II и HLY A, Д, E), KubGAU B-923 (O26:K99, STX 2e, RTX α -гемолизин, SUB AB5, колицин V и HLY E), KubGAU B-933 (O157:K88, STX 2e, RTX α -гемолизин, SUB AB5, и HLY A, Д, C, E), депонированные государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» под номерами B-15569, B-15570, B-15571, B15572.

Образцы были депонированы в базу данных NCBI под общим номером BioProject PRJNA887444. Также каждый штамм бактерий был зарегистрирован под индивидуальными номерами. Так, *E. coli* KubGAU B-533 в различных базах имеет следующие номера: BioSample – SAMN31169425, GenBank – ASM2566039v1, Sequence Read Archive (SRA) – SRS15925162; *E. coli* KubGAU B-546: BioSample – SAMN31181481, GenBank – ASM2581757v1, SRA – SRS15925163; *E. coli* KubGAU B-923: BioSample – SAMN31181488, GenBank –

ASM2581758v1, SRA – SRS15925164; *E. coli* KubGAU B-933: BioSample – SAMN31185483, GenBank – ASM2567444v1, SRA – SRS15925165 [30].

Статистическим материалом для исследования распространения эшерихиоза среди телят и поросят служили данные ветеринарной отчетности государственного бюджетного учреждения ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория» в ретроспективе по годам (с 2008 по 2023 гг.). Степень напряженности эпизоотической ситуации и специфику выраженности эпизоотического процесса при эшерихиозе телят и поросят анализировали с учетом распространенности, территориальной и временной приуроченности, также обращали внимание на структуру заболевания. Изучение эпизоотической ситуации проводили с использованием методов сравнительно-географического и эпизоотологического анализа, а также данных лабораторных исследований [89; 216].

При изучении состава микроорганизмов, изолированных от новорожденных телят и поросят при острых кишечных заболеваниях, материалом для исследований служили кровь, паренхиматозные органы, головной мозг, трубчатая кость, кишечник, фекалии больных и павших телят и поросят, принадлежащих хозяйствам Краснодарского края [153; 173].

Бактериологические исследования осуществляли согласно «Методическим указаниям по бактериологической диагностике смешанных кишечных инфекций» (Москва, 2000). Родовую и видовую принадлежность бактерий устанавливали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам. Для выделения и изучения культуральных свойств использовали коммерческие питательные среды: ГМФ-агар, ГМФ-бульон, агар Эндо, агар Плоскирева (ЗАО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», г. Санкт-Петербург), Endo agar, SMAC-agar (Sorbitol-MacCONKEY agar), CAYE Broth (Мерк, Германия), среда Чапека (фирма «Биокомпас», г. Углич), ГРМ-агар и питательная среда № 10 ГРМ (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г. Оболенск), ЦПХ-агар, питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* сухая, среда типа МакКонки (ФГУП НПО «Питательные среды», г. Махачкала).

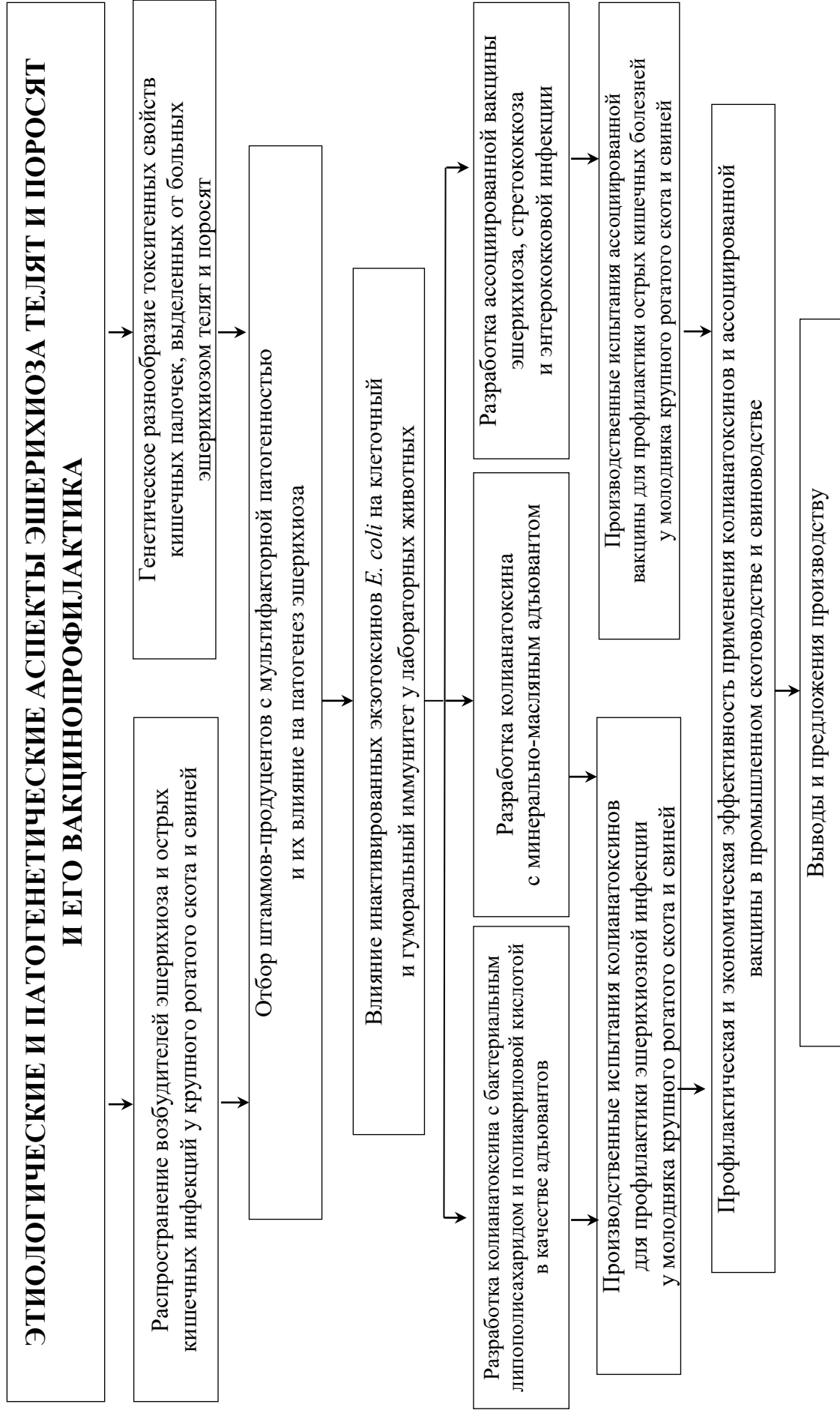


Рисунок 1 – Схема исследований

Кроме этого, по известным прописям готовили кровяной агар, желточно-солевой агар, агар с теллуридом калия, агар Вильсона-Блер [85]. Морфологические и тинкториальные свойства изучали на основании окраски по Граму, используя набор Микро-ГРАМ-НИЦФ (ЗАО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», г. Санкт-Петербург). Биохимическую активность бактерий устанавливали с использованием микро-ла-тестов ENTEROtest 24, NEFERMtest 24, EN-COCCUStest, STREPTOtest 16, STAPHYtest 16, ANAEROtest 23 (фирма «Pliva-Lachema Diagnostika», Чешская Республика), а интерпретацию результатов и окончательную идентификацию микроорганизмов проводили по определителям бактерий [102; 103; 173].

Наличие гемолитической активности (ГА) определяли на агаре Хоттингера с добавлением 7 % крови барана, но без добавления глюкозы. Адгезивную активность микроорганизмов определяли по методике В. И. Брилис с соавторами [67] с использованием нативных эритроцитов кроликов. Величину адгезивной активности оценивали по индексу адгезии микроорганизмов (ИАМ). Обнаружение фимбрий общего типа (I тип, F1, MS пили) проводили с помощью манозочувствительной реакции гемагглютинации с эритроцитами морской свинки, для чего на предметном стекле смешивали равные объемы (по одной капле) 0,85%-го раствора NaCl, 5%-й взвеси эритроцитов и одной миллиардной суспензии испытуемых клеток энтеробактерий. Параллельно ставили реакцию с аналогичными компонентами, но вместо 0,85%-го раствора NaCl использовали 1,5%-й раствор D-маннозы [183]. Антилизозимную активность (АЛА) выявляли на твердой питательной среде по методике А. В. Бухарина с соавторами [67]. Способность продуцировать экзотоксины выявляли в тесте отека лапы мыши используя 48 ч бульонные культуры, которые предварительно стерилизовали центрифугированием при 8000 об./мин в течение 60 мин [67; 128; 183].

Наличие генов патогенности эшерихий для выявления специфических участков ДНК генов шигатоксина I типа (STX 1), шигатоксина II типа (STX 2) энтерогеморрагических *E. coli*, термостабильного (ST-I и ST-II) и термолабиль-

ного (LT) энтеротоксинов энтеротоксигенных *E. coli* были использованы тест-системы АмплиСенс Эшерихиозы-FL диареегенные *E. coli* (Москва). Также набор АмплиСенс «ДНК-сорб-В» для выделения ДНК из цельной крови, биоптатов, фекалий (Москва) [30].

Обнаружение фимбрий проводили с помощью манозонезависимой реакции гемагглютинации (РГА). Для этого использовали культуру *E. coli*, PBS (физиологический раствор с фосфатным буфером), 1 % суспензии эритроцитов барана в PBS, микроцентрифужные пробирки, предметные стекла микроскопа и покровные стекла, микроскоп LEVENHUK 850B [67; 183].

Процедура заключалась в следующем. Вначале выращивали культуру *E. coli* до логарифмической фазы в подходящей питательной среде. Измельчали бактерии центрифугированием при $3000 \times g$ в течение 10 мин. Дважды промывали бактериальный осадок с помощью PBS. Повторно суспендировали бактериальный дебрис в PBS до оптической плотности приблизительно 0,5 при 600 нм. Добавляли 50 мкл бактериальной суспензии в пробирку для микроцентрифуги. Вносили 50 мкл 1%-й суспензии эритроцитов барана в пробирку для микроцентрифуги. Тщательно перемешивали бактериальную суспензию и суспензию эритроцитов, используя пипетку. Выдерживали смесь в течение часа при комнатной температуре. Смесь бактерий и эритроцитов осаждали центрифугированием при $3000 \times g$ в течение 10 мин. Удаляли надосадочную жидкость и ресуспендировали бактериальный осадок в 50 мкл PBS. Наносили каплю бактериальной суспензии на предметное стекло микроскопа и накрывали покровным стеклом. Полученную бактериальную суспензию смотрели под микроскопом при 1000-кратном увеличении для определения наличия или отсутствия гемагглютинации (скопления эритроцитов) в присутствии бактерий. Также ставили реакцию с аналогичными компонентами, но вместо PBS использовали 1,5%-й раствор D-маннозы. Гемагглютинация указывает на наличие фимбрий, которые связываются с эритроцитами маннозозависимым образом. На основании результатов РГА устанавливали тип фимбрий (адгезинов) *E. coli* – маннозочувствительные (фимбрии I типа, общие, или неспецифические адгезины) и маннозоустойчивые (фимбрии II типа, или специфические адгезины).

Вид специфического адгезина устанавливали с помощью адгезивных коллисыворотов в реакции агглютинации [427].

При изучении генетического потенциала токсигенных *E. coli*, выделенных от телят и поросят, изоляты KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, выделенные от поросят, и KubGAU B-933, изолированный от теленка, были подвергнуты полногеномному секвенированию по Сэнгеру.

Видовую идентификацию патогенных кишечных палочек проводили с использованием метода MALDI-TOF MS на спектрометре VastoSCREEN при помощи прилагающегося программного обеспечения (Литех, РФ).

Для подготовки к выделению ДНК образцы бактерий суспендировали в 0,5 мл ТЕ-буфера и центрифугировали 2 мин при 14000 об./мин. Надосадочную жидкость удаляли, из осадка выделяли ДНК с помощью DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Германия) по протоколу, входящему в набор. Количество выделенной ДНК оценивали с помощью флуориметра Qubit («ThermoFisher», США).

Молекулярно-генетическую характеристику изолятов *E. coli* на определение генов экзотоксинов и патотипов эшерихий с выявлением специфических участков ДНК устанавливали в полимеразно-цепной реакции с использованием тест-систем АмплиСенс Эшерихиозы-FL диареегенные *E. coli* (Москва).

Также при помощи метода ПЦР исследовали образцы на продуцирование следующих токсинов: термолабильный энтеротоксин, термостабильные токсины (ST-I и ST-II), шигатоксин типов 1 и 2. Проводили анализ с помощью следующих праймеров, синтезированных компанией ЗАО «Евроген» (Москва):

LT_F (5'-CTGCCATCGATTCCGTATATGAT-3'),
 LT_R (5'-CAGAACTATGTTTCGGAATATCGCA-3'),
 ST-I_F (5'-TACCTCCCGTCATGTTGTTTCAC-3'),
 ST-I_R (5'-CCTCGACATATAACATGATGCAACTC-3'),
 ST-II_F (5'-TTTTTCTATTGCTACAAATGCCTATGC-3'),
 ST-II_R (5'-AACSTTTTTTACAACSTTTCCTTGGC-3'),
 STX1_F (5'-TCCCCAGTTCAATGTAAGATCAAC-3'),
 STX1_R (5'-TTTCGTACAACACTGGATGATCTCA-3'),

STX2_F (5'-GAGTGACGACTGATTTGCATTCC-3'),

STX2_R (5'-CCATGACAACGGACAGCAGTT-3').

ПЦР-смесь включала в себя: 12,6 мкл воды, 2,5 мкл буфера, 0,5 мкл dNTP (10 mM каждого), 8 мкл праймера (концентрация – 3 mM), 0,4 мкл полимеразы Taq I (ЗАО «Евроген», Россия), 5–20 нг ДНК. Полимеразная цепная реакция проводилась в амплификаторе C1000 Touch 96 («Bio-Rad», США) при следующих параметрах: начальная денатурация – 10 мин при 95 °C; далее 40 циклов, включающих в себя: денатурацию при 95 °C в течение 30 с, отжиг праймеров при 60 °C – 30 с и синтез при 72 °C – 30 с; после чего проводилась финальная элонгация при 72 °C в течение 5 мин [30].

Продукты ПЦР разделяли с помощью горизонтального электрофореза в 1%-м агарозном геле в ТАЕ-буфере при 100 А и 100 V в течение часа. Результат визуализировали с помощью GelDoc Go Gel Imaging System («Bio-Rad», США). Для определения нуклеотидной последовательности геномов, исследуемых образцов *E. coli*, были подготовлены библиотеки с помощью набора DNA Preparation (M) Tagmentation Kit («Illumina Inc», США). Необходимую концентрацию библиотек подбирали в соответствии с показателями флуориметра Qubit. Полногеномное секвенирование проводили при помощи аппарата MiSeq («Illumina Inc», США). Полученные файлы формата fastq были использованы для сборки геномов *de novo* при помощи алгоритмов SPAdes v.3.15.3 в программе UGENE. Качество сборки геномов было оценено с помощью QUAST v.5.0.2 [30; 440]. Полученные контиги были депонированы в NCBI как архивы прочтений и геномы, после чего их кодирующие последовательности ДНК (CDS) были автоматически аннотированы при помощи NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) [30].

Оценка токсичности кишечной палочки проводилась с использованием метода биотестирования, в котором применялись инфузории рода *Stylonychia mytilus*. В ходе эксперимента в питательную среду с простейшими добавили бульонную культуру *E. coli* в соотношении 3:1. Это соотношение было выбрано для достижения оптимальных условий для взаимодействия микроорганизмов.

Чтобы снизить влияние потенциальных факторов окружающей среды и обеспечить достоверность результатов, исследования проводились в пяти повторностях. Каждое повторение позволяло получить данные, которые затем использовались для расчета среднего процента выживания простейших [50; 61; 106].

Для оценки активности экзотоксинов кишечной палочки были применены два экспериментальных подхода: тест отека мышиной лапы и тест на мышах-сосунках [42; 50; 61]. Исследовались штаммы KubGAU B-533 и KubGAU B-546, которые культивировали на питательной среде при температуре 37 °C в течение шести дней. Штаммы KubGAU B-923 и KubGAU B-933 подверглись аналогичному процессу, но на один день дольше – в течение семи суток. После 6 или 7 дней культивации проводилось центрифугирование, чтобы отделить бактериальную массу от культуральной среды. Центрифугат в дозе 0,05 мл вносился в подушечки правой лапы 15 белым мышам, разделенным на три группы по пять особей. В качестве контроля в левую заднюю лапу вводили стерильную питательную среду в аналогичном объеме. Через 24 ч измеряли величину отека лапы, сравнивая его с показателями контрольной группы. Показатель отека, равный 65 мг и более, считался положительным, что указывало на активность экзотоксинов.

Для выявления термостабильного экзотоксина использовали 20 мышат возрастом 3–4 дня, которые удерживались на голодной диете в течение 18 ч. Им вводили центрифугат культур тестируемых штаммов анально в дозе 0,1 мл, а контрольной группе – стерильный бульон. Через 4 ч проводился анализ, определяющий отношение суммы масс тонких кишок к общему весу тушек. Положительным признаком считалось значение равное 0,05 и выше, что позволяло выявить наличие и активность экзотоксинов [42].

Для изучения влияния токсических экзометаболитов *E. coli* на гематологические показатели и уровень цитокинов в сыворотке крови использовали белых крыс линии Вистар массой 175 ± 10 г, которым однократно внутрибрюшинно вводили заранее установленную сублетальную дозу (1,8 мл) культуральной среды, содержащей тот или иной вид токсинов. Было сформировано шесть групп по 10 животных в каждой. Животным 1-й группы вводили безмикробный

центрифугат культуральной среды *E. coli* KubGAU B-546, 2-й группы – KubGAU B-533, 3-й группы – KubGAU B-933, 4-й группы – смесь культуральных сред трех штаммов, 5-й группы – стерильный питательный бульон (положительный контроль). Животные 6-й группы были интактными (отрицательный контроль). Через 3, 6, 12, 24 ч после введения центрифугатов (фильтратов) культуральных сред у крыс осуществляли отбор крови.

В крови определяли уровень гематокрита и содержание эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и их популяционный состав. Для этого использовали гематологический автоматический анализатор URIT-5160 Vet (Medical Electronic Co., Китай).

Цитокиновый профиль оценивали по содержанию в сыворотке крови интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-10 (ИЛ-10) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) с использованием иммуноферментных тест-систем для определения уровней цитокинов в сыворотке крови (АО «Вектор-Бест-Юг», г. Ростов-на-Дону) и иммуноферментного анализатора FlexA-200 (Allsheng, Китай) [25; 52].

Оценку клинических и патогистологических изменений проводили на 1,5–2-месячных кроликах путем экспериментального воспроизведения эшерихиозной инфекции. Для этого сформировали две группы животных по пять животных в каждой со средней живой массой 650 ± 30 г. Кроликам опытной группы ректально с помощью уретрального катетера в прямую кишку вводили токсин содержащие смеси, полученные от штаммов кишечных палочек (KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933), содержащих гены основных экзотоксинов и других метаболитов. Кролики 2-й группы являлись контролем, им вводили стерильный питательный бульон. Токсинсодержащие бульонные смеси, содержащие основные экзометаболиты патогенных *E. coli*, получали путем культивирования в течение 6–7 сут изолятов кишечной палочки со стабильным генетическим набором, отвечающих за продукцию соответствующих токсинов и других метаболитов, и их последующим центрифугированием. Контроль продукции экзометаболитов осуществляли биологическим

методом на инфузориях-стилонихиях. Наблюдение за кроликами осуществляли в течение 7 дней с фиксаций их состояния и клинического проявления токсикоинфекции. Погибших животных вскрывали и подвергали патологоанатомическому осмотру на наличие характерных изменений. Для гистологических исследований у кроликов отбирали ткани сердца, легких, печени, селезенки, поджелудочной железы, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника, почек, скелетных мышц, головного и спинного мозга. Затем пробы фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, готовили гистосрезы и проводили их окрашивание гематоксилин-эозином для улучшения визуализации различных клеточных компонентов и структурных особенностей. Микроскопию гистосрезов осуществляли с помощью микроскопа фирмы Zeiss с фотофиксацией [200; 345].

Для получения колианатоксина штаммы *E. coli* KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933 по отдельности засеивали в пробирки с 10 мл питательной среды для накопления токсинов кишечной палочки [107], после чего их помещали в термостат, где культивировали при 37 °C в течение 6–8 ч до появления легкой мути, свидетельствующей о росте микроорганизмов. Затем полученные культуры переносили в 250 мл колбы Эрленмейера, содержащую 100 мл авторской питательной среды и инкубировали в термостате (BD 56 Binder, Германия) при температуре 37 °C в течение 24 ч [179]. Периодическое культивирование и инактивацию штаммов эшерихий проводили в биореакторе с мешалкой объемом 100 л, который был оснащен системой термостатирования, шестилопастной турбиной Раштона и системами контроля температуры и pH. Перед окончанием инкубирования отбирали по 10 мл культуральной жидкости и использовали ее после центрифугирования при 10 тыс. об./мин в течение 30 мин для определения наличия токсинов. Оценку токсинообразования *E. coli* проводили методом биотестирования с использованием инфузорий рода стилонихия [106]. При наличии токсинов в оставшиеся культуры добавляли формалин до концентрации 0,3–0,4 %. Инактивацию культур проводили в течение 14 сут при температуре 37 °C с ежедневным двукратным перемешиванием. После завершения инактивации равные объемы культур объединяли, получив, таким образом, комплексный препарат, со-

держаний токсидные антигены. С помощью стерилизующей фильтрации отделяли микробную массу от среды культивирования. Готовый препарат в асептических условиях фасовали в стерильные флаконы, закупоривали и использовали в дальнейших исследованиях [110].

Наличие иммуногенной активности у колианатоксина устанавливали в опыте на белых крысах. Для этого было сформировано четыре группы по пять голов в каждой – три контрольных, животных которых иммунизировали однократно соответствующим моноанатоксином, и одну опытную, животных которой иммунизировали полианатоксином (колианатоксином). Антигенный материал вводили внутримышечно в дозе 0,15 мл. Группу отрицательного контроля, состоящую из интактных крыс, в опыт не стали включать, так как в предварительных исследованиях ни в одном случае фоновых значений специфических анитоксических антител у них установлено не было.

Определение в сыворотке крови животных специфических анитоксических антител осуществляли и интерпретировали в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с разработанным нами эритроцитарным диагностикумом [111]. При этом эритроциты барана получали общепринятым методом путем дефибрирования свежеполученной крови с последующим отмыванием забуференным физраствором (рН 7,2). Часть отмытых эритроцитов хранили в ЗФР при температуре 2–6 °С, а остальные формализовали по Weinbach [51, 194; 195].

Способ получения эритроцитарного антигенного диагностикума включает в себя два этапа: 1) получение антигенов; 2) сенсibilизация эритроцитов смесью антигенов.

1. Для получения антигенов (экзотоксинов) использовали токсигенные штаммы *E. coli* KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933, обладающие способностью продуцировать термолабильный, термостабильный и шигаподобный токсины. Отобранные штаммы по отдельности засеивали в пробирки с 10 мл бульона Хоттингера, после чего их поместили в термостат, где культивировали при 37 °С в течение 6–8 ч до появления легкой муты, свидетельствующей о росте микроорганизмов. Затем полученные культуры

перенесли в колбы с 200–300 мл бульона Хоттингера и инкубировали при 37 °С в течение 7 сут. Ежедневно 2 раза в сутки колбы встряхивали. Перед окончанием инкубирования из каждой колбы отобрали по 10 мл культуральной жидкости и после центрифугирования при 10 тыс. об./мин в течение 30 мин использовали ее для определения наличия токсинов по выше изложенной методике. При наличии токсинов в оставшиеся культуры добавляли формалин до концентрации 0,3–0,4 %. Инактивацию культур проводили в течение 14 сут при температуре 37 °С с ежедневным двукратным перемешиванием. После завершения инактивации равные объемы культур объединили, получив, таким образом, комплексный препарат, содержащий три вида антигенов. С помощью стерилизующей фильтрации отделили микробную массу от среды культивирования [110; 194; 195].

2. Сенсibilизацию формализированных эритроцитов осуществляли следующим образом. Антиген разводили фосфатно-буферным раствором (рН 7,2) в соотношении 1:2 и добавляли к формализированным эритроцитам (сенсibilизировали), предварительно разведенным тем же буферным раствором до 2,5 % концентрации. Сенсibilизацию проводили в течение 2 ч при 37 °С. После этого сенсibilизированные эритроциты трижды отмывали центрифугированием при 1500 об./мин 10 мин 5-кратным объемом фосфатно-буферным раствором рН 7,2. Осадок отмытых сенсibilизированных эритроцитов суспендировали в фосфатно-буферном растворе до 10 % концентрации и хранили в условиях холодильника.

Для постановки реакции, отмытые сенсibilизированные эритроциты разводили до 1%-й концентрации, полученную взвесь в объеме 0,25 мл добавляли к исследуемой иммунной сыворотке, разведенной изотоническим раствором хлорида натрия от 1:2 до 1:1024 и разлитой по 0,25 мл в луночки планшета. Результаты учитывали по четырех плюсовой системе после 2 ч инкубации в термостате при 37 °С [51; 194; 195].

Определение среднелетальной дозы смеси токсинов *E. coli* проводили в опыте на белых мышах массой 18–20 г. Для чего было сформировано семь групп по шесть животных в каждой, которым внутрибрюшинно инъецировали 0,9–0,6–0,3–0,1–0,05–0,025–0,0125 мл смеси токсинсодержащей безмикробной

культуры *E. coli* штаммов KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933 соответственно. Смесь токсинов получали путем объединения бульонных культур соответствующих штаммов, выращенных на авторской питательной среде в течение 6–7 дней с последующим центрифугированием в течение часа при 10 тыс. об./мин. После заражения мышей в течение 10 дней содержали в условиях вивария с ежедневной регистрацией погибших и выживших животных. Определение ЛД₅₀ токсинов проводили по методу Кербера. Протективные свойства колианатоксина изучали на 30 белых мышах. На первом этапе применяли схему двукратной иммунизации КА с интервалом в 7 дней в дозе 0,1 + 0,1 мл (опытная группа). Вторая группа являлась контрольной, мышам вводили вакцину Коли-Вак по аналогичной схеме и в дозах, как для первой группы. Третья группа мышей являлась контрольной, им вакцинацию не проводили [67; 194; 195].

Для проведения опыта по изучению показателей крови и функциональной фагоцитарной активности после воздействия колианатоксином нами было отобрано 30 белых крыс, которых разделили на три группы, по 10 животных в каждой. Животные 1-й группы являлись опытными, им вводили колианатоксин внутримышечно двукратно в ранее установленной дозе 0,15 мл; 2-я группа крыс была положительно контрольной, им вводили двукратно внутримышечно питательный бульон для накопления токсинов *E. coli* в дозе 0,3 мл. Крысы 3-й группы были интактными (группа отрицательного контроля). После введения токсинов провели отбор крови у крыс на 1-е, 3-и, 5-е и 7-е сутки. Показатели крови определили гематологическим методом с помощью автоматического анализатора Abacus Junior Vet производства DIATRON (Австрия). Лейкоформулу подсчитывали с помощью автоматического лейкоцитарного счетчика. В качестве индикаторных показателей определяли содержание эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов. В качестве индикаторных показателей фагоцитарного звена иммунитета определяли фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ). Завершенность фагоцитарной реакции и процесса пере-

варивания оценивали по проценту переваривания (% перевар.) [48; 50; 84; 180; 194; 197; 199; 202; 203; 207; 302; 470; 471].

Для изучения микробицидной активности нейтрофилов кровь у лабораторных животных исследовали через 12, 24, 72 и 168 ч после введения препаратов. В качестве критериев оценки функциональной активности микробицидной системы нейтрофилов использовали НСТ-тест (СЦИ_{сп}), коэффициент мобилизации (КМ), средние цитохимические индексы уровня активации миелопероксидазы (СЦИ МП), хлорацетатэстеразы (СЦИ ХА) и катионных белков (СЦИ КБ). В качестве тест-объекта для фагоцитоза применили наиболее распространенный в данных случаях микроорганизм *Staphylococcus aureus* штамм 209Р [84; 87; 194; 195; 196; 206].

В качестве адъювантов для колианатоксина использовали пирогенал (ГУ НИИЭМ имени Н.Ф. Гамалеи РАМН, г. Москва) в дозе 100 мкг/мл (ЛПС), алюминия гидрат окиси коллоидный (ФГУП «Армавирской биофабрики») в 20%-й концентрации (ГОА), полиакриловую кислоту (ПАК) в дозе 3 мг/мл и минеральное масло марки «Маркол-52» с эмульгатором маннида монаалеата – Монтанид (90:10) (МА) в 50%-й концентрации. Также в опытах использовали МА, состоящий из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1-диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло «М» по ТУ 381011224 – 98,5 % (патент РФ № 2510845) [3; 194; 195; 196; 250; 478].

Изучение иммуногенных свойств анатоксина с адъювантами проводили на белых крысах массой 180 ± 10 г. Для этого поставили ряд опытов.

На первом этапе определяли уровень специфических антител в сыворотке крови белых крыс после однократного введения анатоксина. Для этого было сформировано шесть групп животных по 10 гол.: 1-я группа – интактные животные (отрицательный контроль); 2-я группа – животным внутримышечно инъецировали 0,15 мл КА (положительный контроль); 3-я группа – животным инъецировали 0,15 мл КА с ЛПС; 4-я группа – животным инъецировали 0,15 мл КА с ГОА; 5-я группа – животным инъецировали 0,15 мл КА с ПАК; 6-я группа – животным

инъектировали 0,15 мл КА с МА. Через 1, 2, 3, 5, 7 и 21 сут отбирали кровь, в сыворотке которой в РНГА определяли уровень титров антител к токсинам *E. coli*.

На втором этапе исследований провели изучение иммуногенных свойств КА с адьювантами при двукратном введении препаратов. Для этого сформировали пять групп по 10 животных в каждой. Крыс иммунизировали внутримышечно двукратно с интервалом 7 дней. Животным 1-й группы инъектировали 0,15 мл КА (положительный контроль); 2-й группы – 0,15 мл КА с ЛПС; 3-й группы – 0,15 мл КА с ГОА; 4-й группы – 0,15 мл КА с ПАК; 5-й группы – 0,15 мл КА с МА. Кровь для определения наличия антитоксических антител отбирали на 7, 14, 21, 28 и 35 сут после последней инъекции препаратов [194; 195].

Влияние адьювантов на протективные свойства анатоксина изучали на белых мышах. На первом этапе применяли схему однократной иммунизации КА. С этой целью было сформировано семь групп по 10 животных в каждой. Первым двум группам животных подкожно инъектировали колианатоксин с ЛПС, в 1-й группе иммунизирующая доза составляла 0,1 мл, во 2-й – 0,2 мл. Животных 3-й и 4-й групп иммунизировали колианатоксином с ПАК, доза в 3-й группе составляла 0,1 мл, в 4-й – 0,2 мл. Животным 5-й и 6-й групп инъектировали КА в дозах 0,1 и 0,2 мл соответственно. Седьмая группа являлась контрольной, животных не иммунизировали. На втором этапе изучали протективные свойства КА при двукратной иммунизации белых мышей. Для постановки данного опыта было сформировано четыре группы по 10 животных. Мышей 1-й группы иммунизировали КА с ЛПС в дозе 0,1 мл; 2-й группы – КА с ПАК в дозе 0,1 мл; 3-й группы – КА без адьювантов в дозе 0,1 мл; 4-я группа являлась контрольной, животных не иммунизировали. Через 7 дней после последнего введения препаратов произвели отбор крови для определения титров антител, для этих целей было отобрано по три животных из каждой опытной группы. Затем провели заражение оставшихся животных смесью токсинсодержащей безмикробной культуры *E. coli* штаммов KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933 в раннее установленной 3 ЛД₅₀ равной 0,129 мл, путем внутрибрюшинного введения. За животными наблюдали в течение 10 дней, учитывая количество павших и выживших в каждой группе [194; 195].

Для определения оптимальной схемы иммунизации с целью обеспечения колострального иммунитета у новорожденных поросят и телят к токсинам *E. coli* провели две серии опытов. В первой серии исследования проводили на свиньях. Для этого было сформировано 10 групп, в каждой из которых было по три супоросных свиноматки: 9 групп были опытными и одна контрольной.

Свиноматок 1-й опытной группы иммунизировали КА с ЛПС в дозах 3 и 3 мл; 2-й группы – КА с ЛПС в дозах 5 и 5 мл; 3-й группы – КА с ЛПС в дозах 3 и 5 мл; 4-й группы – КА с ПАК в дозах 3 и 3 мл; 5-й группы – КА с ПАК в дозах 5 и 5 мл; 6-й группы – КА с ПАК в дозах 3 и 5 мл. Опытные группы 7–9 вакцинировали анатоксином без добавления адъювантов. Свиноматок 7-й группы иммунизировали КА в дозах 3 и 3 мл; 8-й группы – в дозах 5 и 5 мл; 9-й группы – в дозах 3 и 5 мл. Животных опытных групп иммунизировали внутримышечно двукратно с интервалом 7 дней. Животные контрольной группы не вакцинировались.

За опытными животными вели клиническое наблюдение, при этом учитывали общую и местную реакцию на введение препаратов. У свиноматок через 7 дней после первой и 7 дней после второй вакцинации исследовали сыворотку крови на наличие специфических антитоксических антител. Сразу после опороса отбирали пробы молозива, в которых определяли уровень антитоксических антител. Для получения сыворотки молозиво нагревали до 38 °С в водяной бане и добавляли равный объем 0,1Н раствора соляной кислоты и одну каплю насыщенного раствора пепсина на 5 мл смеси. После центрифугирования в сыворотке молозива определяли содержание антител. У поросят (по три поросенка от каждой свиноматки) на 2, 5, 7 сут жизни отбирали кровь для исследования уровня колостральных антитоксических антител в РНГА [62; 194; 195; 208].

Во второй серии опытов исследования проводили на стельных коровах голштинской породы. Для этого было сформировано девять опытных и одна контрольная групп, по пять животных в каждой. Все коровы содержались в одинаковых условиях. Животных опытных групп за 30 дней до предполагаемого отела иммунизировали подкожно двукратно с интервалом 10 дней. Животные контрольной группы не вакцинировались.

Коров 1-й опытной группы иммунизировали КА с ЛПС в дозах 3 и 5 мл; 2-й группы – КА с ЛПС в дозах 5 и 5 мл; 3-й группы – КА с ЛПС в дозах 5 и 10 мл; 4-й группы – КА с ПАК в дозах 3 и 5 мл; 5-й группы – КА с ПАК в дозах 5 и 5 мл; 6-й группы – КА с ПАК в дозах 5 и 10 мл; 7-й группы – КА в дозах 3 и 5 мл; 8-й группы – КА в дозах 5 и 5 мл; 9-й группы – КА в дозах 5 и 10 мл.

За опытными животными вели клинические наблюдения до отела и после, учитывая общую и местную реакцию на введение препаратов, течение стельности и состояние молочной железы. У коров через 10 дней после первой и 10 дней после второй вакцинации (за 7–10 дней до отела) исследовали сыворотку крови на наличие специфических антитоксических антител. Сразу после отела отбирали пробы молозива, в которых также определяли уровень антитоксических антител. У телят, родившихся от иммунизированных коров, на 2-е, 7-е и 14-е сутки жизни отбирали кровь для исследования уровня колостральных антитоксических антител. Контролем служили телята аналогичного возраста, полученные от не вакцинированных коров [62; 194; 195; 178].

Этапы получения иммунобиологического препарата против эшерихиоза животных отражено на рисунке 2. Для этого штаммы *E. coli* KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, KubGAU B-933, обладающие генами экзотоксинов, культивировали на питательном бульоне при температуре 37 °С в течение 6–7 дней, затем их инактивировали формалином до его конечной концентрации 0,3–0,4 % в течение 14 сут. Затем смешивали культуры в равных соотношениях, центрифугировали, подвергали стерилизующей фильтрации и добавляли адъюванты, в качестве которых использовали препарат пирогенал в 0,01 % концентрации и 3%-й раствор полиакриловой кислоты, которые вносили в бесклеточную культуральную среду, содержащую термолабильные, термостабильные и шигаподобные токсины *E. coli* поочередно с последующим перемешиванием до получения однородной смеси, при следующем соотношении компонентов, масс. %: 0,01%-й концентрации пирогенал (ЛПС) и 3%-й водный раствор полиакриловой кислоты (ПАК) по 9–11 % и бесклеточная культуральная среда, содержащая инактивированные термолабильные, термостабильные и шигаподобные токсины *E. coli* до 100 % [2; 11; 118; 119].

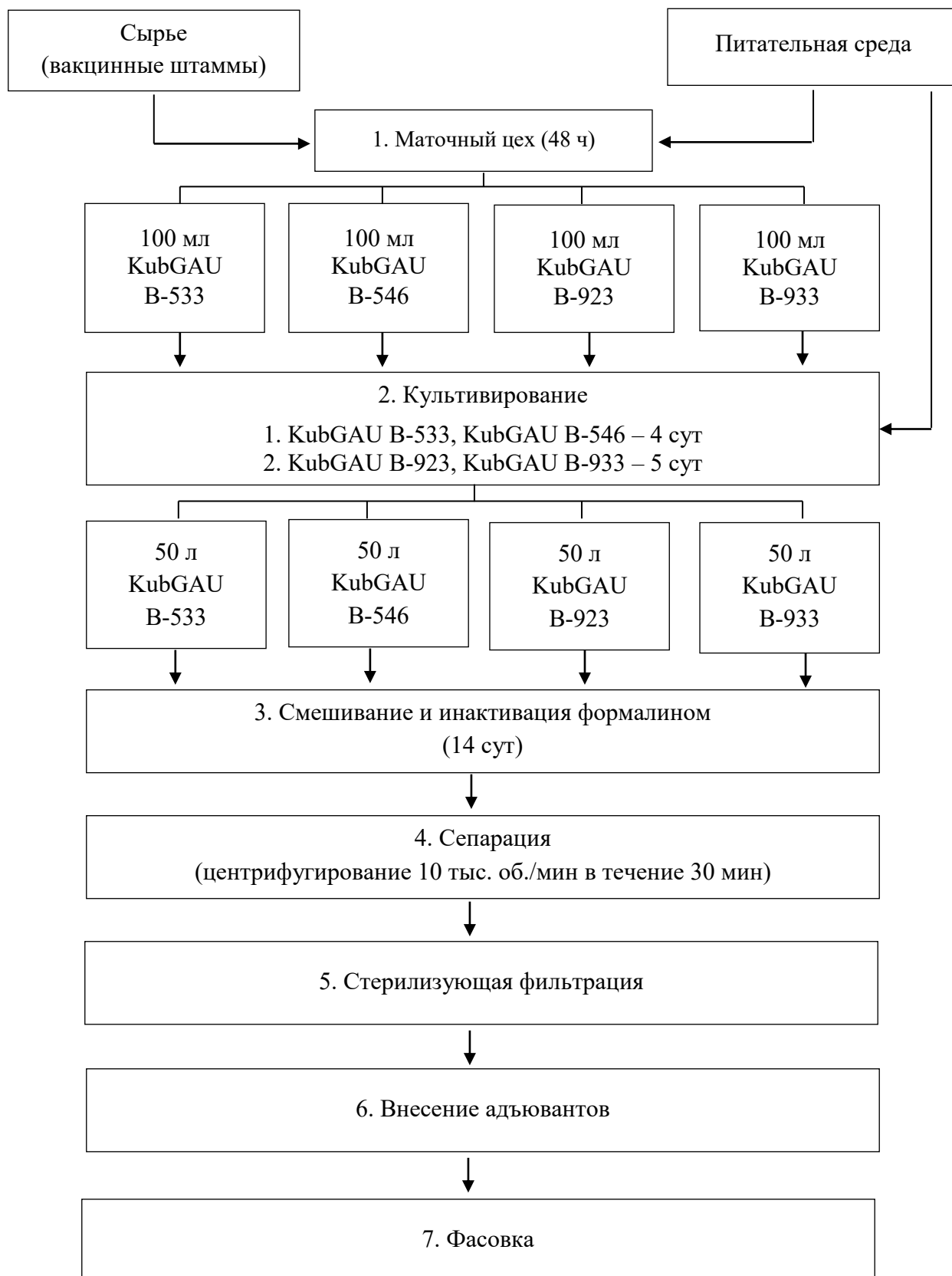


Рисунок 2 – Общая технологическая схема производства
колианатоксина с адъювантами

Для изучения иммуногенных свойств колианатоксина в сочетании с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой было сформировано четыре группы белых крыс по 6 гол. в каждой, которым внутримышечно двукратно инъецировали по 0,15 мл препарата, в первой группе использовали колианатоксин без адьюванта (КА), во второй – колианатоксин с пирогеналом (КА+ЛПС), в третьей – колианатоксин с полиакриловой кислотой (КА+ПАК), в четвертой – колианатоксин с пирогеналом и полиакриловой кислотой (КА+ЛПС+ПАК). Спустя 7, 14, 21, 60, 90 и 120 дней в реакции непрямо́й гемагглютинации определяли титр антител к токсинам *E. coli* [118; 119; 141; 204].

Для изучения иммуногенных свойств колианатоксина с пирогеналом и полиакриловой кислотой на крупном рогатом скоте было сформировано пять групп стельных коров по 25 гол. в каждой. Всех животных иммунизировали препаратами двукратно, первый раз за 30 дней до отела и второй раз за 15 дней до отела. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Первую группу коров (опытная № 1) иммунизировали колианатоксином с адьювантным комплексом в дозе 3 и 5 см³. Вторую группу коров (опытная № 2) иммунизировали КА с ЛПС+ПАК двукратно в дозе 5 см³. Третью группу животных (опытная № 3) вакцинировали в дозах 5 и 10 см³. Четвертую группу коров (контроль № 1) иммунизировали анатоксином с пирогеналом по схеме и в дозах аналогичных в третьей группе. Пятую группу коров (контроль № 2) иммунизировали анатоксином с полиакриловой кислотой по схеме и в дозах аналогичных третьей и четвертой группам. Эффективность вакцин оценивали по степени нарастания антитоксических антител у стельных коров и полученных от них телят на 2-е и 7-е сутки после рождения. Сыворотку крови для определения наличия антитоксических антител исследовали в реакции непрямо́й гемагглютинации [121; 141; 222; 422].

При изучении применения анатоксина в сочетании с адьювантами в свиноводческом хозяйстве, сформировали пять групп супоросных свиноматок по пять животных в каждой, которых двукратно иммунизировали испытуемыми препаратами первый раз за 30 дней до опороса, второй раз – за 20 дней до

опороса, внутримышечно в область основания ушной раковины. В первой группе (опытная № 1) свиноматок иммунизировали анатоксином с адьювантным комплексом в дозе 3 мл. Животных второй группы (опытная № 2) вакцинировали КА с ЛПС+ПАК двукратно в дозе 3 + 5 мл. Третью группу (опытная № 3) свиноматок иммунизировали анатоксином с адьювантным комплексом в дозах 5 + 5 мл. Четвертую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали колианатоксином с ЛПС (положительный контроль № 1) в дозах 5 + 5 мл. Пятая группа свиноматок иммунизировалась колианатоксином с ПАК (положительный контроль № 2) в дозах 5 + 5 мл. Сыворотку крови для определения наличия антитоксических антител проводили в реакции непрямой гемагглютинации, которую отбирали через 7 дней после последней их вакцинации, также определяли наличие молозивных антител. У полученных от вакцинированных свиноматок поросят сыворотку крови исследовали на 2-й, 7-й и 14-й день после рождения [122; 222; 422].

Для определения оптимальных доз и изучения иммуногенности КА с адьювантным комплексом из поросят, полученных от двукратно иммунизированных свиноматок КА с ЛПС+ПАК в дозе 5 мл, сформировали три группы. Первой группе животных вводили КА с ЛПС+ПАК в дозах 0,25 + 0,5 мл, второй – 0,5 + 0,5 мл, третьей – 0,5 + 1 мл. Вакцинацию поросят осуществляли на 14-й день после их рождения на стадии расходования колостральных антител.

Для оценки профилактической эффективности колианатоксина с ЛПС и ПАК при эшерихиозе у телят первую группу коров иммунизировали КА с ЛПС+ПАК в дозе 10 мл первый раз за 30 дней до отела, второй раз – за 15 дней до отела в дозе 5 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Вторую группу коров иммунизировали вакциной Коливак в дозах согласно наставлению. Третья группа коров была контрольной, они не иммунизировались. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их в другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и летальности [118; 119; 120].

Для оценки профилактической эффективности колианатоксина с ЛПС и ПАК при эшерихиозе у поросят сформировали три группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой. В первой группе свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали КА+ЛПС+ПАК. Свиноматок иммунизировали в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины первый раз за 30 дней до опороса, второй раз – за 20 дней до опороса. Поросят иммунизировали внутримышечно в области внутренней поверхности бедра, дважды: первый раз в возрасте 14 дней в дозе 0,25 мл, а второй – через 7 дней в дозе 0,5 мл. Вторую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали Коливаком в дозах согласно наставлению. Третья группа свиноматок была контрольной, они и полученные от них поросята не иммунизировались. За поросятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных [118; 119; 121].

Для разработки иммунобиологического препарата на основе колианатоксина и минерально-масляного адъюванта основные экзометаболиты патогенных кишечных палочек получали путем культивирования в течение 6–7 сут штаммов KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, KubGAU B-933 со стабильным генетическим набором, отвечающих за продукцию соответствующих токсинов (LT, ST и STX) и других метаболитов, и их последующим центрифугированием и стерилизующей фильтрации. Контроль продукции экзометаболитов контролировали биологическим методом на инфузориях-стилонихиях. На следующем этапе с помощью стерилизующей фильтрации отделили микробную массу от среды культивирования, получая, таким образом, бесклеточную культуральную среду *E. coli*, куда затем вносили адъюванты: 2%-ю суспензию $Al(OH)_3$ (ГОА) и масляный адъювант (МА), состоящий из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1-диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло «М» по ТУ 381011224 – 98,5 % (патент РФ на изобретение № 2510845). Подбор оптимальных компонентов адъювантов осуществлялся опытным путем – на 100 мл колианатоксина вносили 20 % $Al(OH)_3$ и 50 % масляного адъюванта. При заявленном

соотношении веществ наблюдали максимальную иммуногенную эффективность препаратов и отсутствие раздражающего и реактогенного действия [123; 124; 125; 126; 127; 193].

Для изучения иммуногенных свойств колианатоксина и минерально-масляного адъюванта было сформировано четыре группы белых крыс по шесть голов в каждой, которым внутримышечно однократно инъецировали по 0,15 мл препарата: в первой группе использовали колианатоксин (КА) без адъюванта, во второй – колианатоксин с гидратом окиси алюминия (КА+ГОА), в третьей – колианатоксин с масляным адъювантом (КА+МА), в четвертой – колианатоксин с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантом (КА+ГОА+МА). Спустя 7, 14, 28, 56, 90 и 120 дней в реакции непрямой гемагглютинации определяли титр антител к токсинам *E. coli* [123; 124].

Для изучения иммуногенных свойств биопрепаратов на сельскохозяйственных животных сформировали по пять групп для каждого вида – в каждой группе по 10 стельных коров голштинской породы и пять супоросных свиноматок крупной белой породы. Животным вводили колианатоксин с комбинированным минерально-масляным адъювантом (КА+ГОА+МА), колианатоксин с гидратом окиси алюминия (КА+ГОА) и масляным адъювантом (КА+МА). Иммунизацию стельных коров осуществляли до отела подкожно: первый раз – за 45 дней, а второй раз – за 15 дней, супоросных свиноматок до опороса внутримышечно: первый раз – за 40 дней, а второй раз – за 15 дней. Полученное потомство (поросят) иммунизировали двукратно. Дозы препаратов и схема опыта представлены в таблице 1. Сроки вакцинации определяли опытным путем с контролем максимального накопления антител у беременных животных в кровяном русле и молозиве. Двукратная вакцинация потомства осуществлялась по мере расходования у них молозивных антител с целью стимуляции выработки собственных защитных клеток против возбудителя эшерихиоза и повышения иммунного статуса у телят и поросят.

Для профилактики отечной болезни поросят провели дополнительные исследования по применению колианатоксина с ГОА+МА в схемах, включающих

вакцинацию беременных животных и двукратную иммунизацию народившегося поголовья. Для этого из поросят, полученных от двукратно иммунизированных свиноматок КА с ГОА+МА в дозе 5 мл, сформировали три группы. Первой группе животных вводили КА с ГОА+МА в дозах 0,25 + 0,50 мл, второй – 0,50 + 0,50 мл, третьей – 0,50 + 1,00 мл. Вакцинацию поросят осуществляли на 21-й день после их рождения на стадии расходования защитных колостральных антител [126; 127; 193].

Таблица 1 – Схема опыта по использованию колианатоксина и адъювантов у свиней и крупного рогатого скота

Номер группы животных	Препарат	Дозы препаратов, см ³		
		свиноматки	поросята	коровы
1	КА+ГОА+МА	3 + 3	0,25 + 0,50	3 + 5
2	КА+ГОА+МА	3 + 5	0,50 + 0,50	5 + 5
3	КА+ГОА+МА	5 + 5	0,50 + 1,00	5 + 10
4	КА+ГОА	5 + 5	0,25 + 0,50	5 + 10
5	КА+МА	5 + 5	0,25 + 0,50	5 + 10

Для оценки профилактической эффективности колианатоксина с адъювантным комплексом при эшерихиозе у телят первую группу коров иммунизировали КА с ГОА+МА до отела: первый раз – за 45 дней в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Вторую группу коров иммунизировали вакциной Коливак в дозах согласно наставлению. Третья группа коров была контрольной, их не иммунизировали. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их в другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и летальности [126; 215].

Для обоснования эффективности использования вакцины для профилактики эшерихиоза у поросят, в хозяйстве длительно неблагополучном по эшерихиозу были сформированы три группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой. В первой группе свиноматок и полученных от них поросят иммуни-

зировали КА+ГОО+МА. Свиноматок иммунизировали до опороса первый раз за 40 дней в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали внутримышечно в области внутренней поверхности бедра дважды: первый раз в возрасте 21 дня в дозе 0,25 мл, а второй раз – через 7 дней в дозе 0,5 мл. Вторую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали вакциной Коливак по схеме и в дозах согласно наставлению. Третья группа свиноматок была контрольной, они и полученные от них поросята не иммунизировались. За поросятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных [127; 215].

Для разработки ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококка и энтерококковой инфекции использовали депонированные штаммы патогенных *E. coli* (KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, KubGAU B-933) с уже известными свойствами и эпизоотические изоляты гемолитических вариантов *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis*. Отобранные штаммы по отдельности засеивали в пробирки с 10 мл питательного бульона, состоящего из кислотного гидролизата крови (9–11 %), аутолизата пекарских дрожжей (9–11 %), ферментативного пептона (0,9–1,1 %), натрия хлорида (0,4–0,6 %), двузамещенного фосфорнокислого натрия (0,05–0,15 %), калия хлорида (0,01–0,03 %) и дистиллированной воды (до 100 %) [107]. Для стрептококка и энтерококка дополнительно в эту питательную среду вносили стерильный 40%-й раствор глюкозы до 1 % концентрации. Посевы инкубировали при 37 °С в течение 6–8 ч до появления легкой мути, свидетельствующей о росте микроорганизмов. Затем полученные культуры переносили в колбы с 200–300 мл аналогичного питательного бульона и инкубировали при 37 °С: штаммы *E. coli* в течение 7 дней, а штаммы *S. bovis* и *E. faecalis* – в течение 24 ч до достижения концентрации 5–6 млрд микробных клеток в 1 мл. Ежедневно два раза в сутки колбы встряхивали. По окончании инкубации во все культуры добавляли формалин до концентрации 0,3–0,4 % и осуществляли инактивацию *E. coli* в течение 14 сут, *S. bovis* и *E. faecalis* – 3 сут при температуре 37 °С с ежедневным двукратным

перемешиванием. После завершения инактивации равные объемы культур *E. coli* объединяли и с помощью стерилизующей фильтрации отделяли микробную массу от среды культивирования, получая, таким образом, бесклеточную культуральную среду *E. coli* (колибактериозный антигенный компонент, колианатоксин). Инаktivированные культуры стрептококка и энтерококка подвергали стандартизации путем разбавления их физиологическим раствором до концентрации 5 млрд микробных клеток в 1 см³ по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. Далее колианатоксин и инаktivированные бульонные культуры *S. bovis* и *E. faecalis* соединяли при следующем соотношении компонентов, мас. % [109; 116]:

культуральная среда, содержащая инаktivированные клетки гемолитических штаммов <i>Streptococcus bovis</i>	26,0–30,0
культуральная среда, содержащая инаktivированные клетки гемолитических штаммов <i>Enterococcus faecalis</i>	26,0–30,0
колианатоксин	остальное.

Иммуногенные свойства вакцины проверяли на пяти кроликах массой 2,5–3 кг, при этом оценивали накопление в сыворотке крови животных антитоксических антител в реакции гемагглютинации и антител к капсульному антигену стрептококка и энтерококка в реакции преципитации в стеклянном капилляре. Кроликов иммунизировали дважды с интервалом 7 дней в дозе 1,0 мл. Перед второй иммунизацией и спустя 7 дней после второй иммунизации у животных отбирали кровь и исследовали ее на наличие специфических антител.

Защитные свойства ассоциированной вакцины против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции проверяли на модели острых инфекций при внутрибрюшинном заражении белых мышей. Эшерихиозную токсикоинфекцию моделировали введением смеси токсинов в дозе 0,1 мл (2LD₅₀), стрептококковую и энтерококковую инфекции – на суточных бульонных культурах в дозе 300 и 500 млн м.т. соответственно. Для этого было сформировано три опытных и три контрольных группы по 10 мышей в каждой. Мышей опытных групп дважды с интервалом 7 дней иммунизировали вакциной, ассоциированной против

колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят в дозе 0,1 мл. Мышам контрольных групп ничего не вводили. Через 7 дней после второй иммунизации животных опытных и контрольных групп заражали и в течение 10 дней вели наблюдение, учитывая при этом количество павших [116].

Изучение иммуногенной активности ассоциированной вакцины на свиноматках проводили на свиноферме «Пятачок» учебно-опытного хозяйства «Кубань». Для опыта по принципу пар-аналогов отобрали 20 супоросных свиноматок, из которых сформировали три опытных и одну контрольную группы по 5 гол. в каждой. Свиноматок опытных групп иммунизировали дважды внутримышечно – за 30 и 20 дней до опороса. Животным 1-й группы вакцину вводили в дозе 3 мл, 2-й группы – 5 мл, 3-й группы – 7 мл; 4-я группа была контрольной, животным которой ничего не вводили. После каждой иммунизации за свиноматками вели регулярное клиническое наблюдение, в ходе которого поствакцинальных общих (отказ от корма, угнетение, повышение температуры тела) и местных (болезненность и покраснение места инъекции) реакций, а также поствакцинальных осложнений в виде маститов и абортов не выявлено. У свиноматок через 7 дней после второй иммунизации в РНГА и РП определяли уровень специфических антител в сыворотке крови, а сразу после опороса – в молозиве. У новорожденных поросят (по три поросенка от каждой свиноматки) на 3 сут жизни определяли уровень колостральных антител [114; 116].

Изучение иммуногенной активности ассоциированной вакцины проводили на крупном рогатом скоте черно-пестрой породы, принадлежащих УОХ «Кубань». Для опыта по принципу пар-аналогов отобрали 40 стельных коров за 30 дней до предполагаемых родов, из которых сформировали три опытных и одну контрольную группы по 10 гол. в каждой. Коров опытных групп иммунизировали дважды внутримышечно – за 30 и 20 дней до отела: животным 1-й группы вакцину вводили в дозе 5 мл, 2-й группы – 5 и 10 мл, 3-й группы – 10 мл; 4-я группа была контрольной, животным которой ничего не вводили. После каждой иммунизации за коровами вели регулярное клиническое наблюдение, в ходе которого поствакцинальных общих (отказ от корма, угнетение,

повышение температуры тела) и местных (болезненность и покраснение места инъекции) реакций, а также поствакцинальных осложнений в виде маститов и абортос не выявлено. У коров через 7 дней после второй иммунизации в РНГА и РП определяли уровень специфических антител в сыворотке крови, а сразу после отела – в молозиве. У новорожденных телят на 3 сут жизни определяли уровень колостральных антител [115; 116].

Для проведения исследования по профилактической эффективности ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции в хозяйстве, длительно неблагополучном по острым кишечным заболеваниям поросят, сформировали три группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой. В первой группе (опытная) свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали ассоциированной вакциной. Свиноматок иммунизировали внутримышечно в область основания ушной раковины до опороса дважды: первый раз – за 30 дней в дозе 5,0 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5,0 мл. Поросят иммунизировали внутримышечно в области внутренней поверхности бедра дважды: первый раз – в возрасте 15–17 дней в дозе 0,25 мл, а второй раз – в возрасте 28–30 дней в дозе 0,5 мл. Свиноматок второй группы (положительный контроль) вакцинировали вакциной ОКЗ производства ООО «АГРОВЕТ» (г. Москва) согласно инструкции, а, именно, двукратно за 30 и 40 дней до опороса в дозе 5,0 мл подкожно. Поросят, полученных от данных свиноматок, вакцинировали подкожно в дозе 1,0 мл первый раз в возрасте 25–27 дней, второй раз – в возрасте 35–37 дней. В третьей группе (отрицательный контроль) ни свиноматок, ни полученных от них поросят не вакцинировали [109; 114; 116].

Для определения профилактической эффективности ассоциированной вакцины в хозяйстве, длительно неблагополучном по острым кишечным заболеваниям телят, сформировали три группы стельных коров по 25 животных в каждой. В первой группе (опытная) коров и полученных от них телят иммунизировали ассоциированной вакциной. Коров иммунизировали до отела первый раз за 30 дней в дозе 5,0 мл, второй раз – за 15 дней в дозе 10,0 мл. Полученных от

этих коров телят (25 гол.) иммунизировали первый раз в возрасте 15–20 дней в дозе 1,0 мл, а второй раз – через 10–15 дней в дозе 2,0 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Коров второй группы (положительный контроль) вакцинировали вакциной ОКЗ производства ООО «АГРОВЕТ» (г. Москва) согласно наставлению, а, именно, двукратно за 30 и 20 дней до отела в дозе 5,0 мл подкожно в области верхней трети шеи. Телят, полученных от данных коров (25 гол.), вакцинировали подкожно в области верхней трети шеи в дозе 1,5 мл первый раз в возрасте 30 дней, второй раз – в возрасте 40 дней. В третьей группе (отрицательный контроль) ни коров, ни полученных от них телят не вакцинировали [109; 115; 116].

Полученные результаты обрабатывали математическими и статистическими методами с определением степени достоверности по распределению Стьюдента с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016. Для выполнения расчетов использовалась «Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» [69; 83].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Распространение эшерихиоза телят и поросят в Краснодарском крае

На современном этапе развития сельского хозяйства эшерихиоз имеет широкое распространение среди молодняка крупного рогатого скота и свиней. Несмотря на внедрение новых технологий выращивания молодняка, а также средств и методов профилактики эшерихиоза, это заболевание продолжает оставаться одной из насущных проблем животноводческой отрасли. Эшерихиоз значительно снижает рентабельность животноводства и определяется это главным образом ущербом от падежа, от снижения темпов роста и затрат на проведение вынужденных ветеринарно-санитарных и лечебных мероприятий [38; 45; 58; 89; 147; 150; 169; 188; 233; 292; 294; 334; 395].

Анализ статистического материала по проведенным лабораторным исследованиям относительно выявления эшерихиоза телят и поросят в Краснодарском крае за последние 15 лет представлен в таблице 2. Из содержания данной таблицы видно, что эшерихиозная инфекция среди молодняка крупного рогатого скота и свиней за отчетный период регистрировалась ежегодно. За период с 2008 по 2023 гг. от павших телят было доставлено 8802 образцов патологического материала. При бактериологическом исследовании получено 3576 положительных результатов на эшерихиоз (46,2 %). От павших поросят было доставлено 3373 образцов патологического материала, в 1600 случаях (47,4 %) диагноз на колибактериоз был подтвержден. Исходя из представленных данных следует, что почти в каждом втором доставленном патологическом материале выявлялся возбудитель эшерихиоза, а это в свою очередь свидетельствует о значительном распространении патогенных *E. coli* среди молодняка крупного рогатого скота и свиней и их этиологическом участии в развитии желудочно-кишечных поражений.

Таблица 2 – Количество подтвержденных случаев эшерихиоза у телят и поросят по результатам лабораторных исследований

Год	Телята			Поросята		
	количество поступившего патматериала на эшерихиоз	количество положительных проб	процент положительных результатов	количество поступившего патматериала на эшерихиоз	количество положительных проб	процент положительных результатов
2008	989	470	47,5	790	229	28,9
2009	885	365	41,2	789	385	48,8
2010	266	220	82,7	515	408	79,2
2011	150	95	63,3	214	161	75,2
2012	830	274	33,0	305	159	52,1
2013	801	257	32,1	175	50	28,6
2014	815	293	35,9	151	64	42,4
2015	629	213	33,9	110	41	37,3
2016	759	346	45,6	82	47	57,3
2017	574	283	49,3	35	17	48,6
2018	456	196	42,9	40	12	30,0
2019	309	138	44,6	57	7	12,3
2020	223	89	39,9	10	1	10,0
2021	547	196	35,8	32	6	18,7
2022	295	60	20,3	38	8	21,1
2023	274	81	29,5	30	5	16,6
Итого	8802	3576	46,2	3373	1600	47,4

Наибольшее количество положительных проб на эшерихиоз у телят зарегистрировано в 2008 г. – 470 из 989 (47,5 %). У поросят наибольшее количество подтвержденных случаев эшерихиоза приходился на 2010 г. – 408 из 515 (79,2 %). Стоит отметить, что период с 2008 по 2014 гг. был самыми неблагопо-

лучным в отношении эшерихиоза, как у телят, так и у поросят, когда в среднем каждый второй лабораторный анализ на эшерихиоз был положительным, а процент регистрации болезни достигал 58 %.

Динамика регистрации эшерихиоза у телят и поросят на основе результатов лабораторных исследований представлена на рисунках 1 и 2. Анализ данной динамики на эшерихиоз у телят показал (рисунок 3), что за период с 2008 по 2023 гг. было два 7-летних периода с пиками в 2010 г. и в 2017 г., когда процент подтвержденных диагнозов на эшерихиоз составил 82,7 и 49,3 % соответственно. Промежуточными периодами, характеризовавшимися спадом и минимальным уровнем выявления возбудителя эшерихиоза, а, следовательно, подтверждения диагноза, были 2009 г. с уровнем положительных результатов в 41,2 %, 2012 г. – в 33,0 % и 2022 г. – в 20,3 %. Исходя из обозначенной тенденции и построенной линии тренда, следует предположить, что в 2024–2025 гг. следует ожидать увеличение числа случаев выявления эшерихиоза у телят, однако резкого всплеска заболеваемости ожидать не стоит.

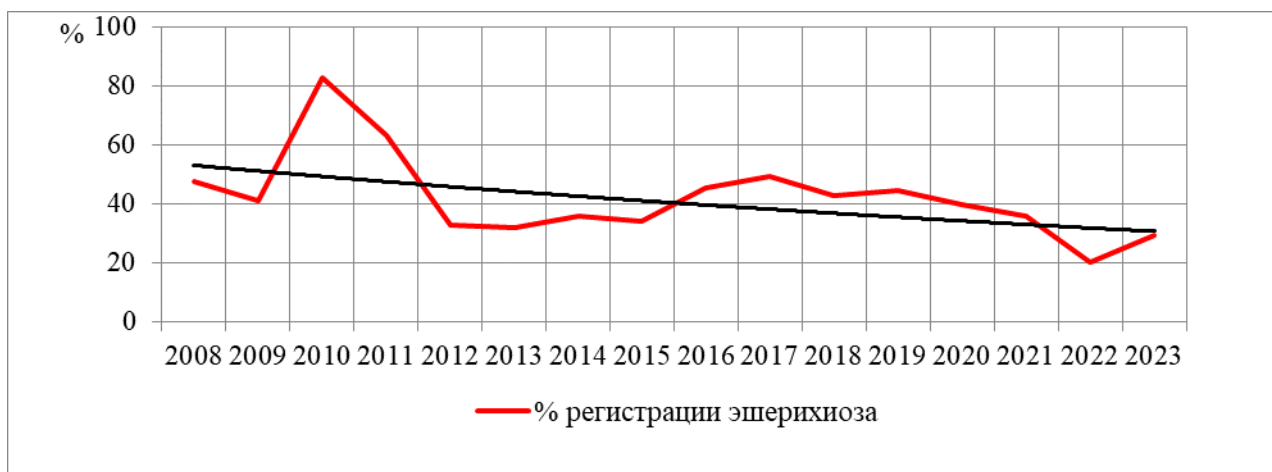


Рисунок 3 – Динамика положительных результатов лабораторных исследований на эшерихиоз телят за 2008–2023 гг.

Касаемо поросят, ситуация несколько иная. В динамике количества положительных результатов на эшерихиоз поросят выявлено четыре пика с интервалом от 2 до 6 лет – в 2010, 2014, 2016 и 2022 г. (рисунок 4). Максималь-

ное количество положительных результатов (первый пик) было выявлено в 2010 г. – 79,2 %, в последующие 4 года уровень количества положительных результатов на эшерихиоз снижался вплоть до 2013 г. – 28,6 % положительных результатов. Второй пик положительных результатов был отмечен в 2014 г. – 42,4 %, после чего в 2015 г. количество подтвержденных исследований на эшерихиоз снизилось до 37,3 %, а в 2016 г. вновь возросло до 57,3 %. Последующие четыре года происходил спад заболеваемости, о чем свидетельствует снижение количества подтвержденных диагнозов на эшерихиоз до 10 %. Однако в 2021 г. произошло увеличение случаев положительных результатов. В этом году их было зарегистрировано 18,7 % от общего количество исследованного материала. Четвертый пик произошел в 2022 г., когда диагноз на эшерихиоз был установлен в 21,1 % случаев. В 2023 г. частота положительных результатов на эшерихиоз вновь снизилась.



Рисунок 4 – Динамика подтвержденных результатов лабораторных исследований на эшерихиоз поросят за 2008–2023 гг.

При анализе территориального распространения эшерихиоза среди телят и поросят (таблица 3) было установлено, что самыми неблагополучными в эпизоотическом плане были Кавказский (1350 и 1089 подтвержденных случаев

эшерихиоза) и Усть-Лабинский (314 и 213 подтвержденных случаев) районы. В свою очередь, эшерихиоз у телят чаще регистрировался в Тимашевском (378 исследований), Северском (245 исследований), Ейском (191 исследований), Ленинградском (180 исследований) и Каневском (172 исследований) районах.

Среди свиней неблагополучие по эшерихиозу чаще всего регистрировали в Новопокровском (121 исследований), Каневском (86 исследований), Курганинском (83 исследований), Куцевском (81 исследований) и Тимашевском (74 исследований) районах.

Таблица 3 – Количество случаев регистрации эшерихиоза у телят и поросят в районах Краснодарского края по данным лабораторных исследований за 2008–2023 гг.

Район	Количество положительных результатов на эшерихиоз по данным лабораторных исследований, гол.	
	телята	поросята*
1	2	3
Абинский	–	1
Анапский	3	1
Апшеронский	–	2
Белоглинский	2	2
Белореченский	42	13
Брюховецкий	9	27
Выселковский	1	2/1
Гулькевичский	–	–
Динской	–	33
Ейский	191	25
Кавказский	1350	1089
Калининский	2	–
Каневской	172	86
Кореновский	12	25
Красноармейский	–	–
Крыловской	–	–

Продолжение таблицы 3

1	2	3
Крымский	27	8
Курганинский	109	83
Куцевский	92	81
Лабинский	57	35
Ленинградский	180	49
Мостовской	–	–
Новокубанский	87	34
Новопокровский	64	121
Отраденский	11	–
Павловский	3	26
Приморско-Ахтарский	31	13
Северский	245	10
Славянский	32	17
Староминский	10	8
Тбилисский	63	10
Темрюкский	1	1
Тимашевский	378	74
Тихорецкий	32	64
Туапсинский	–	–
Успенский	3	–
Усть-Лабинский	314	213
Щербиновский	–	–
Примечание: * – с учетом случаев отечной болезни.		

Следует отметить общую тенденцию снижения доставки в лаборатории края патологического материала на предмет исключения эшерихиоза. Данная тенденция вряд ли соотносится со снижением заболеваемости телят и поросят диареями, поскольку материалы ветеринарной отчетности свидетельствуют об обратном. Так, в 2013 г. было получено 141,7 тыс. телят и 438,2 тыс. поросят, из которых соответственно заболело болезнями органов пищеварения 44,9 тыс.

(заболеваемость 31,7 %) и 124,6 тыс. (заболеваемость 28,4 %). В этом же году было доставлено в ветеринарные лаборатории края 801 материал от телят и 175 от поросят. Спустя 10 лет, т. е. в 2023 г., было получено 149,7 тыс. телят и 440 тыс. поросят, из которых соответственно заболело желудочно-кишечными болезнями 37,3 тыс. (заболеваемость 24,9 %) и 227,7 тыс. (заболеваемость 51,7 %). Несмотря на имеющую место высокую заболеваемость (у поросят она даже увеличилась), тем не менее количество отправленного для бактериологических исследований материала значительно сократилось. От телят для диагностических целей было доставлено только 274 материала, а от поросят – 30, т. е. это почти в 3 и 6 раз меньше, чем в 2013 г. Исходя из этого, можно констатировать, что истинная информация о благополучии хозяйств по эшерихиозу и другим бактериозам телят и поросят отсутствует, что не способствует осуществлению полноценного контроля за кишечными инфекциями [151; 216].

Таким образом, исходя результатов проведенных аналитических исследований, отчетливо видно, что эшерихиоз в крае имеет широкое территориальное распространение, болезнь диагностируется ежегодно, количество положительных результатов (подтверждений) находится в пределах 46,2–47,4 %. В динамике выявления болезни отчетливо просматривается ее волнообразный характер с пиками каждые 3–5 лет. Исходя из этого эпизоотический процесс при эшерихиозе телят и поросят в Краснодарском крае можно охарактеризовать как напряженный, отличающийся энзоотичностью и периодичностью. Данное обстоятельство должно побуждать ветеринарную службу хозяйств быть постоянно внимательной к этой инфекции и более ответственно подходить к выбору средств и методов контроля за ней. Кроме того, учитывая тот факт, что возбудитель эшерихиоза имеет разнообразные патотипы и обладает способностью быстро приспосабливаться к антимикробным веществам необходимо постоянно осуществлять мониторинг распространенности у него факторов патогенности и антибиотикорезистентности.

3.2 Характеристика циркулирующих на фермах Краснодарского края возбудителей эшерихиоза и других острых кишечных инфекций

Наиболее распространенной патологией у новорожденных телят и поросят являются острые кишечные заболевания [6; 96; 153]. По данным департамента ветеринарии Краснодарского края, ежегодно в среднем этой патологией поражается 28–30 % телят и 38–40 % поросят [170]. Предрасположенность к заболеваниям у новорожденных связывают с нарушениями условий содержания и кормления их матерей, поскольку от этого зависит полноценность внутриутробного развития. В случае недоразвития в антенатальном периоде или недополучения колостральных иммуноглобулинов в постнатальном периоде, телята и поросята после рождения трудно приспособляются к биотическим и абиотическим условиям окружающей среды и становятся чрезвычайно чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов [170; 241]. К дефекту раннего постнатального периода, приводящего к заболеванию телят и поросят диареями, следует отнести отсутствие у них колонизационной резистентности, продолжительность становления и уровень которой напрямую коррелирует с состоянием здоровья матерей в период родов и санитарным состоянием помещений, куда попадают новорожденные [20; 21; 45; 153]. В случае доминирования в кишечном тракте у новорожденных условно-патогенной микрофлоры из числа энтеробактерий, стафилококков, стрептококков, энтерококков, клостридий и других бактерий над симбиотическими микроорганизмами развивается дисбиотическое состояние, которое по своему клинико-эпизоотологическому проявлению, может характеризоваться как смешанная или ассоциированная кишечная инфекция [45; 96].

Как показали исследования ряда авторов, круг ассоциантов, обуславливающих развитие острых кишечных заболеваний у телят и поросят, может быть самым разнообразным не только в пределах биологических объектов, но и территориальных границ [6; 45; 96; 241], что предполагает разработку «адресных» вакцинных препаратов для использования в различных субъектах РФ.

3.2.1 Состав микроорганизмов, изолированных от новорожденных телят и поросят при острых кишечных заболеваниях, и их патогенный потенциал

В ходе бактериологических исследований патологического материала было выделено и идентифицировано 1775 изолятов бактерий, в том числе 1299 изолятов от телят и 476 от поросят, которые принадлежали к шести семействам: *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*. Установлено, что доминирующее значение в нозологическом профиле выделенных бактерий принадлежит энтеробактериям, доля которых в общем пуле изолятов составила 70,1 % (1245 изолятов), в том числе доля энтеробактерий, выделенных от поросят, составила 69,3 % (330 изолятов), а от телят – 70,4 % (915 изолятов). На втором месте по частоте выделения оказались энтерококки, доля которых составила 15,9 % (283 изолята), причем данные бактерии чаще всего выделялись от телят (18,8 %) нежели от поросят (8,5 %). На третьем месте по числу изолятов оказались стрептококки – 11,1 % (197 изолята), которые, напротив, чаще выделялись из патологического материала от поросят (19,5 %) нежели от телят (8,0 %). Количество изолятов, принадлежащих семействам *Pseudomonadaceae*, *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*, составило 2,6 %, 0,2 % и 0,05 % соответственно. Причем псевдомонады выделялись как от телят (2,1 %), так и от поросят (0,5 %), тогда как алькалигены и альтеромонады – исключительно от поросят.

Энтеробактерии были представлены 11 родами и 19 видами (таблица 4). Доминирующим видом среди данной группы микроорганизмов был *Escherichia coli* (*E. coli*). Всего количество выделенных изолятов *E. coli* составило 692, или 55,6 %. Причем от поросят данная энтеробактерия выделялась на 10,1 % чаще, чем от телят – 63,0 % и 52,9 % соответственно.

Из числа изолированных от телят энтеробактерий на втором месте по частоте встречаемости после кишечной палочки находились клебсиеллы. Всего нами выделен 151 изолят клебсиелл (12,1 %), которые были представлены тремя

видами – *K. ozanae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*. В подавляющем большинстве случаев клебсиеллы выделялись от телят (12,9 %), при этом преобладающим видом была *K. pneumoniae* (8,5 %). От поросят выделяли только два вида – *K. ozanae*, *K. pneumoniae*, первый вид встречался в 4,5 раза чаще, чем второй. Количество выделенных изолятов энтеробактеров составило 114 (9,2 %). Их видовой состав был представлен двумя видами – *E. cloacae* (100 изолятов) и *E. aerogenes* (14 изолятов). Практически все энтеробактеры были выделены от телят.

Таблица 4 – Видовой состав энтеробактерий, выделенных от телят и поросят при острых кишечных инфекциях

Вид энтеробактерий	Количество выделенных штаммов			
	от телят		от поросят	
	абсолютное	%	абсолютное	%
1	2	3	4	5
<i>Escherichia coli</i>	484	52,9	208	63,0
<i>Klebsiella</i> , в т. ч.	118	12,9	33	10,0
<i>K. ozanae</i>	36	3,9	27	8,2
<i>K. pneumoniae</i>	77	8,5	6	1,8
<i>K. oxytoca</i>	5	0,5	–	–
<i>Enterobacter</i> , в т. ч.	111	12,1	3	0,9
<i>E. aerogenes</i>	11	1,2	3	0,9
<i>E. cloacae</i>	100	10,9	–	–
<i>Proteus</i> , в т. ч.	66	7,2	32	9,7
<i>P. vulgaris</i>	15	1,7	28	8,6
<i>P. mirabilis</i>	51	5,7	4	1,2
<i>Citrobacter</i> , в т. ч.	59	6,4	6	1,8
<i>C. freundii</i>	55	6,0	6	1,8
<i>C. diversus</i>	4	0,4	–	–
<i>Providencia</i> , в т. ч.	37	4,0	28	8,5
<i>P. rettgeri</i>	30	3,3	12	3,6
<i>P. alcalifaciens</i>	5	0,5	16	4,8
<i>P. stuarti</i>	2	0,2	–	–

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5
<i>Shigella</i> , в т.ч.	–	–	10	3,0
<i>S. dysenteriae</i>	–	–	7	2,1
<i>S. boydii</i>	–	–	3	0,9
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	37	4,0	–	–
<i>Serratia plymuthica</i>	1	0,1	5	1,5
<i>Morganella morganii</i>	1	0,1	4	1,2
<i>Hafnia alvei</i>	1	0,1	1	0,3
Всего	915	100	330	100

Среди количественно значимых энтеробактерий, выделенных нами от поросят и телят, были также протеи, цитробактеры и провиденсии.

Количество выделенных протеев всего составило 98 (7,9 %) изолятов. Частота обнаружения этих энтеробактерий у телят и поросят была практически одинаковой. Выделенные протеи были двух видов: *P. mirabilis* и *P. vulgaris*. При этом от телят чаще всего выделялся первый вид, тогда как от поросят – второй.

Количество цитробактеров и провиденсий было одинаковым – по 65 изолятов (5,2 %). При этом цитробактеры были представлены двумя видами – *C. freundii* и *C. diversus*. В подавляющем большинстве случаев цитробактеры выделялись от телят и практически все они были представлены первым видом.

Среди провиденсий нами установлены три вида: *P. rettgeri*, *P. alcalifaciens* и *P. stuarti*. Провиденсии чаще выделялись от поросят, чем от телят. От поросят с одинаковой частотой были изолированы два вида – *P. rettgeri* и *P. alcalifaciens*, тогда как от телят в подавляющем большинстве случаев выделялся *P. rettgeri*.

Клюйверы были представлены одним видом – *K. cryocrescens*. Всего нами выделено 37 изолятов данных энтеробактерий, и все они были получены от телят.

Из других энтеробактерий, выделенных нами от телят и поросят, но редко встречаемых, были *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Serratia plymuthica*, *Shigella dysenteriae* и *Shigella boydii*. Следует отметить, что если первые три вида выделялись как от телят, так и поросят, то шигеллы во всех случаях

были изолированы от поросят. Весьма интересным, на наш взгляд, представляется факт выделения от поросят шигелл, которые считаются специфическими возбудителями диареи (дизентерии) у человека, что может свидетельствовать о выраженных адаптационных способностях этих бактерий и расширении ареала паразитирования.

В последнее время возросла частота обнаружения в патологическом материале, взятом от телят и поросят при диареях, гемолитических энтерококков (таблица 5). Из общего количества изолятов (283) энтерококков их подавляющая часть (85,9 %) была выделена от телят, при этом они были представлены тремя видами – *E. faecalis*, *E. faecium* и *E. avium*, из которых первые два вида доминировали.

Таблица 5 – Видовой состав энтерококков, выделенных от телят и поросят при острых кишечных инфекциях

Вид энтерококка	Количество выделенных штаммов			
	от телят		от поросят	
	абсолютное	%	абсолютное	%
<i>E. faecium</i>	112	46,1	16	40,0
<i>E. faecalis</i>	113	46,5	9	22,5
<i>E. mundtii</i>	–	–	5	12,5
<i>E. casseliflavus</i>	–	–	5	12,5
<i>E. avium</i>	18	7,4	3	7,5
<i>E. raffinosus</i>	–	–	2	5,0
Всего	243	100	40	100

От павших поросят с клиникой острого кишечного заболевания нами выделено 40 изолятов энтерококков, принадлежащих к шести видам – *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. raffinosus*, среди которых также большинство составляли *E. faecium* (40 %) и *E. faecalis* (22,5 %).

Выделенные нами от телят и поросят при острых кишечных заболеваниях стрептококки (197 изолятов) были представлены 25 видами (таблица 6). Частот

та выделений различных видов неодинакова, от телят чаще всего выделялся *S. bovis* (29,8 %), принадлежащий к серологической группе D, и зеленящие стрептококки – *S. mitior* (9,6 %) и *S. cricetus* (8,7 %). От поросят чаще всего выделяли *S. bovis* (19,4 %) и *S. acidominimus* (10,7 %). Между тем были и такие стрептококки, у которых отмечена определенная видовая предпочтительность, например, от телят выделяли *S. equi* sp. *equi*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, которые отсутствовали у поросят. В тоже время, от последних выделяли *S. anginosus*, *S. auricularis*, *S. equi* sp. *zooepidemicus*, *S. suis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. vestibularis*, *S. parvulus*, *S. pneumoniae*, отсутствующие у телят. Кроме того, имелись стрептококки, которые выделяли от обоих видов животных, однако *S. oralis* гораздо чаще изолировали от поросят, а *S. mitior* и *S. parauberis* – от телят.

Таблица 6 – Видовой состав стрептококков, выделенных от телят и поросят при острых кишечных инфекциях

Вид стрептококка	Количество выделенных штаммов			
	от телят		от поросят	
	абсолютное	%	абсолютное	%
1	2	3	4	5
<i>S. agalactiae</i>	2	1,9	2	2,2
<i>S. acidominimus</i>	5	4,8	10	10,7
<i>S. anginosus</i>	–	–	3	3,2
<i>S. auricularis</i>	–	–	3	3,2
<i>S. bovis</i>	31	29,8	18	19,4
<i>S. cricetus</i>	9	8,7	5	5,4
<i>S. downei</i>	3	2,9	4	4,3
<i>S. equi</i> sp. <i>zooepidemicus</i>	–	–	1	1,1
<i>S. equi</i> sp. <i>equi</i>	2	1,9	–	–
<i>S. equines</i>	8	7,7	4	4,3
<i>S. gordonii</i>	–	–	5	5,4
<i>S. milleri</i>	5	4,8	3	3,2
<i>S. mitior</i>	10	9,6	2	2,2

Продолжение таблицы 6

<i>I</i>	2	3	4	5
<i>S. mitis</i>	–	–	3	3,2
<i>S. mutans</i>	2	1,9	–	–
<i>S. oralis</i>	3	2,9	6	6,4
<i>S. parauberis</i>	8	7,7	2	2,2
<i>S. parvulus</i>	–	–	1	1,1
<i>S. pneumoniae</i>	–	–	7	7,4
<i>S. porcinus</i>	3	2,9	3	3,2
<i>S. salivarius</i>	4	3,8	1	1,1
<i>S. sanguis</i>	1	1,0	2	2,2
<i>S. sobrinus</i>	8	7,7	–	–
<i>S. suis</i>	–	–	2	2,2
<i>S. vestibularis</i>	–	–	6	6,4
Всего	104	100	93	100

В меньшей степени при острых кишечных инфекциях у поросят и телят выделялись микроорганизмы из группы так называемых грамотрицательных неферментирующих бактерий. Всего таких бактерий было выделено 50 изолятов, из них принадлежащих к семейству *Pseudomonadaceae* – 46, *Alcaligenaceae* – 3 и *Alteromonadaceae* – 1. Выделенные из патологического материала от телят неферментирующие бактерии были представлены только одним видом – *Pseudomonas aeruginosa*, которую выделили в 37 случаях. Из материала, отобранным от павших поросят, было изолировано 13 культур неферментирующих бактерий, из них в одном случае это была *Shewanella putrefaciens*, в трех – *Alcaligenes fecalis* и в девяти – *Pseudomonas aeruginosa*.

Таким образом, результаты исследований показали, что на территории Краснодарского края в развитии диарей у новорожденных телят и поросят принимают участие бактерии, принадлежащие к таким семействам как *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*, тем не менее, ведущая роль в этиологии острых кишечных

заболеваний у телят и поросят принадлежит энтеробактериям, энтерококкам и стрептококкам. Если говорить о конкретных микроорганизмах этих семейств, то это – *E. coli*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *S. bovis*.

Наряду с общим характером частоты выделения отдельных видов бактерий от телят и поросят, установлена и их видовая предпочтительность. Так, от телят чаще, чем от поросят, выделялись энтеробактеры, цитробактеры, клюйверы, *E. faecalis*, *S. cricetus*, *S. mitior*, *S. parauberis* и *P. aeruginosa*. Тогда как от поросят чаще выделялись протеи, провиденсии, шигеллы, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *S. acidominimus*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*, *S. vestibularis* и *Alcaligenes fecalis* [173; 192].

Таким образом, этиологически значимыми бактериями при массовых диареях телят и поросят могут быть самые различные виды, однако в подавляющем большинстве случаев это кишечная палочка, фекальный энтерококк и бычий стрептококк, являющиеся яркими представителями условно-патогенных микроорганизмов. Учитывая полученные данные, следует более тщательно подходить как к вопросам разработки средств специфической профилактики, так и стратегии антибиотикотерапии острых кишечных заболеваний у телят и поросят.

На следующем этапе стояла задача по изучению патогенного потенциал энтеробактерий, выделенных от новорожденных животных при острых кишечных заболеваниях.

В подавляющем большинстве случаев причиной диарей является развитие дисбактериоза с преобладанием в составе кишечной микрофлоры бактерий из семейства *Enterobacteriaceae* [17; 192]. В этом случае заболевание приобретает характер смешанной кишечной инфекции, которой свойственно быстрое распространение, высокая заболеваемость, тяжелое течение и сложность лечения [32; 45]. Тем не менее, при расшифровке этиологии диарей, по-прежнему основное внимание уделяется исключительно *E. coli*, даже если одновременно с ней из патологического материала выделяются другие энтеробактерии, такие как энтеробактеры, цитробактеры, клебсиеллы, протеи, провиденсии и т. д., которые могут обладать сразу несколькими генетическими маркерами патогенности [173].

Как показали собственные исследования и сообщения других авторов [173; 188; 192; 336] на *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *C. freundii* приходится более половины всех случаев выделения энтеробактерий из патологического материала от телят при диареях. Исследования, проведенные нами с этими эпизоотическими штаммами, показали (таблица 7), что все они в той или иной степени обладают факторами патогенности, обеспечивающими им диареегенные свойства.

Таблица 7 – Наличие факторов патогенности у энтеробактерий, изолированных от телят при острых кишечных заболеваниях ($M \pm m$)

Показатель	<i>E. coli</i> (n = 89)	<i>E. cloacae</i> (n = 55)	<i>K. pneumoniae</i> (n = 46)	<i>C. freundii</i> (n = 30)
Количество адгезинпозитивных штаммов, %	74 (83,1)	36 (65,5)	36 (78,3)	20 (66,7)
ИАМ, бактерий/эритроцит	$3,98 \pm 0,31$	$3,27 \pm 0,28$	$3,33 \pm 0,34$	$3,15 \pm 0,26$
Количество штаммов с MS пиллями, %	28 (31,5)	14 (25,5)	6 (13,0)	7 (23,3)
АЛА, мкг/мл	$3,38 \pm 0,06$	$2,86 \pm 0,05$	$3,26 \pm 0,08$	$2,93 \pm 0,08$
Количество штаммов, обладающих ГА, %	38 (42,7)	13 (23,6)	16 (34,8)	5 (16,7)
Количество экзотоксинпродуцирующих штаммов, %	39 (43,8)	23 (41,8)	14 (30,4)	4 (13,3)

Как оказалось, способностью прикрепляться к биологическим поверхностям обладало подавляющее большинство (65,5–83,1 %) выделенных кишечных палочек, энтеробактеров, клебсиелл и цитробактеров, но активность прикрепления в среднем не превышала четырех бактериальных клеток на одном эритроците, что характеризует изучаемые энтеробактерии как среднеадгезивные [67]. Большинство адгезинпозитивных штаммов было среди *E. coli* и *K. pneumoniae*, у которых показатель адгезивности и ИАМ составили 83,1 % и $3,98 \pm 0,31$, 78,3 % и $3,33 \pm 0,34$ соответственно.

Известно, что прикрепление энтеробактерий к клеткам-хозяина обеспечивается как за счет фимбриальных, так и нефимбриальных факторов адгезии. Среди фимбриальных факторов различают общие фимбрии, или MS пили, и специфические фимбрии, или MR пили [12; 373]. Несмотря на то, что к разряду патогенных эшерихий принято относить только те изоляты, которые обладают специфическими пиями (K88, K99, 987P, F41 и др.), тем не менее, как установлено, варианты, обладающие MS пиями, также являются патогенными для животных [12]. Результаты наших исследований показали, что MS пиями обладало 31,5 % изолятов эшерихий, 25,5 % энтеробактеров, 23,3 % цитробактеров и 13 % клебсиелл. Данное обстоятельство может свидетельствовать о том, что в процессе прикрепления изучаемых энтеробактерий к эукариотической клетке, доминирующую роль могут играть не MS пили, а другие факторы адгезии, в том числе нефимбриального происхождения.

Антилизотимной активностью обладали практически все тестируемые штаммы энтеробактерий, однако у большинства из них АЛА находилась в пределах от 1 до 3 мкг/мл инактивированного лизоцима, что характеризовало их как низко- и среднеактивные [67]. Однако у 25–45 % штаммов энтеробактерий АЛА была высокой и составляла 4–5 мкг/мл. Наибольшей способностью нейтрализовывать лизоцим обладали эшерихии и клебсиеллы, АЛА которых была примерно одинаковой – 3,38 и 3,26 мкг/мл. Несмотря на то, что лизоцим активен в отношении грамположительных, а не грамотрицательных бактерий, тем не менее, последние, по всей видимости, инактивируя его, создают безопасную среду в кишечном тракте, органах и тканях для своих частых ассоциантов – энтерококков и стрептококков [185; 188]. Кроме того, сам факт наличия способности у энтеробактерий разрушать гуморальные механизмы защиты макроорганизма свидетельствует о их болезнетворности и способности к длительной персистенции в организме хозяина.

К одним из патогенетических элементов развития кишечной инфекции, обусловленной энтеробактериями, относится продуцирование ими гемолизинов, ока-

зывающих мембраноатакующее действие на клетки крови. Гемолизины представляют собой вещества белковой природы, которые при взаимодействии с эритроцитами формируют на их мембранной поверхности каналы, благодаря которым в клетке нарушается ионное равновесие и прежде всего образуется переизбыток внутриклеточного Ca^{2+} , приводящего в конечном итоге к гибели клетки [12]. Считается, что продукция гемолизинов может также рассматриваться как альтернативный механизм захвата Fe^{2+} из лизированных эритроцитов. Кроме того, установлено, что при взаимодействии гемолизинпозитивных эшерихий с полиморфноядерными лейкоцитами сопровождается выделением медиаторов воспаления, которые обуславливают увеличение сосудистой проницаемости [38].

Нами установлено, что наиболее выраженными гемолитическими свойствами обладали *E. coli* и *K. pneumoniae*, штаммы которых в 42,7 и 34,8 % случаях обладали способностью разрушать эритроциты барана. Количество штаммов *E. cloacae* и *C. freundii*, дающих гемолиз на кровяном агаре, было практически в 2 раза меньшим. В подавляющем большинстве случаев выделенные от телят тестируемые энтеробактерии давали α -гемолиз.

Если диареегенные механизмы гемолизинов энтеробактерий до конца еще не ясны, то диареегенное действие их экзотоксинов не вызывает сомнения. Экзотоксины энтеробактерий по характеру специфического действия на клеточные структуры кишечника хозяина подразделяют на цитотонины и цитотоксины. Первые не изменяют клеточные структуры, к ним относят термостабильный (ST) и термолабильный (LT) токсины, продуцируемые эшерихиями и другими энтеробактериями. Вторые полностью разрушают энтероциты, к этому типу токсинов относят цитотоксический некротизирующий фактор (CNFI, II) и шигатоксин (STX I, II) [12; 61].

Для индикации экзотоксинов в своих исследованиях мы использовали классический метод Ю. П. Вартаняна – модель отёка мышинной лапы, хотя изначально он был ориентирован на выявление только ST. Однако в работе Н. В. Котковой [61] при сравнительном изучении ряда биотестов показано, что в тесте отёка мышинной лапы можно выявлять и другие экзотоксины *E. coli*, в частности STX.

В связи с чем, мы рассматривали данный метод как универсальный для выявления в целом способности продуцировать экзотоксины без их идентификации.

Результаты исследований показали, что количество токсинообразующих штаммов из числа тестируемых *E. coli*, *E. cloacae* и *K. pneumoniae* было достаточно большим и находилось в пределах 30,4–43,8 %, исключение составил *C. freundii*, среди данного вида только 13,3 % штаммов продуцировали экзотоксины [128].

Таким образом, полученные данные позволяют констатировать о наличии выраженного патогенного потенциала у энтеробактерий, циркулирующих на фермах крупного рогатого скота в Краснодарском крае. Доминирование среди значительного количества видов энтеробактерий, изолированных от телят при острых кишечных заболеваниях, именно *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *C. freundii*, по всей видимости, связано с их повышенной агрессивностью к эпителиальным клеткам кишечника хозяина и способностью противостоять его защитным механизмам.

3.2.2 Фимбриальные факторы адгезии у *E. coli*, изолированных от телят и поросят

Патогенная кишечная палочка является основной причиной кишечных заболеваний телят и поросят, приводя к значительным экономическим потерям в животноводстве. Вирулентность кишечной палочки в первую очередь определяется продукцией различных факторов адгезии и экзотоксинов [221].

Считается, что первым этапом развития эшерихиозной диареи является прикрепление диареегенных *E. coli* к эпителиальным клеткам различных отделов кишечного тракта. Для реализации этого первичного условия агрессии в отношении хозяина и конкуренции за эпитопы заселения патогенные *E. coli* экспрессируют на своей поверхности специфические факторы адгезии, которые позволяют им зондировать рецепторы эукариотических клеток, с которыми обычно не справляются комменсальные *E. coli*. Прикрепление позволяет патогенной *E. coli* взаимодействовать с мембраной клетки-хозяина и тем самым обеспечивать оптимальную

доставку их цитотонических или цитотоксических токсинов вблизи мембраносвязанных рецепторов. Бактериальная адгезия к клеткам-мишеням может быть более, чем просто прикрепление, поскольку благодаря специфичному распознаванию молекул, расположенных на мембране эукариотической клетки, запускается механизм активации сигнальных путей, позволяющий бактерии манипулировать функциями клетки-хозяина во время развития патологического процесса [38; 181].

Первичное прикрепление и колонизация диареогенных *E. coli* эпителиальных клеток осуществляется с помощью различных клеточных фимбриальных волосоподобных структур (фимбрии, пили, пилусы) и афимбриальных белков, обеспечивающих более тесный контакт бактерии с клеткой-хозяином. Взаимодействие антигенов адгезии кишечной палочки с эпителиальными и другими клетками макроорганизма осуществляется через соответствующие рецепторы, строение и наличие которых отличается не только у разных видов животных, но и разного возраста одного вида. При отсутствии таких рецепторов животные не заболевают эшерихиозом [58; 181].

При изучении 135 штаммов патогенных *E. coli*, изолированных от новорожденных телят и поросят на неблагополучных фермах, нами установлено (таблица 8), что фимбриальными факторами адгезии обладали 63 % изолятов, в том числе 25,9 % имели фимбрии только 1 типа, 27,4 % – только 2 типа, 9,6 % – одновременно фимбрии 1 и 2 типа и 13,5 % изолятов содержали одновременно известные (K99, K88, 987F, F41 и A20) специфические фимбрии двух видов и такое же количество с неустановленным типом фимбрий.

Есть предположение, что отсутствие специфических фимбрий у энтеротоксигенных *E. coli* может свидетельствовать как об их действительно отсутствии, так и их временной потере или наличии неизвестных, неопределяемых имеющимися антисыворотками, фимбрий [152; 181]. По этому поводу сообщается, что при фенотипическом скрининге у 30–50 % изолятов не удастся установить вид фимбрий, тогда как методом генотипирования постоянно выявляются новые факторы колонизации [171; 181].

Таблица 8 – Наличие фимбрий у патогенных *E. coli*, изолированных от телят и поросят с диареями

Тип фимбриальных адгезинов	<i>E. coli</i> , изолированные от		Всего
	телят (68)	поросят (67)	
Отсутствие фимбрий	26 (38,2 %)	24 (35,8 %)	50 (37,0 %)
Только фимбрии 1 типа	22 (32,4 %)	13 (19,4 %)	35 (25,9 %)
Только фимбрии 2 типа	16 (23,5 %)	21 (31,3 %)	37 (27,4 %)
Фимбрии 1 и 2 типа	4 (5,9 %)	9 (13,4 %)	13 (9,6 %)
Фимбрии 2 типа одного вида	10 (62,5 %)	17 (80,9 %)	27 (73,0 %)
Фимбрии 2 типа двух видов	4 (25,0 %)	1 (4,8 %)	5 (13,5 %)
Фимбрии 2 типа неустановленного вида	2 (12,5 %)	3 (14,3 %)	5 (13,5 %)

Интересным представляется тот факт, что эшерихии свиного происхождения в большей части обладали фимбриями 2 типа (31,3 %), тогда как бовисного, напротив, 1 типа (32,4 %). Фимбрии 2 типа у телят и поросят чаще всего представлены каким-либо одним видом. Однако эшерихии, выделенные от телят в достаточно большом количестве (25 %) имели одновременно два типа сразу двух известных видов. Следует также отметить, что 13,5 % изолятов эшерихий обладало не идентифицированными пиллями 2 типа.

При использовании диагностических антиадгезивных сывороток были идентифицированы виды специфических адгезинов (таблица 9).

Таблица 9 – Виды специфических адгезинов и частота их выявления у *E. coli*, выделенных от телят и поросят

Вид животного	Вид адгезина					Итого
	A20	F41	K88	K99	987P	
Телята	6 (37,5 %)	1 (6,3 %)	3 (18,7 %)	4 (25,0 %)	2 (12,5 %)	16 (100 %)
Поросята	3 (14,3 %)	2 (9,5 %)	9 (42,9 %)	3 (14,3 %)	4 (19,0 %)	21 (100 %)

Установлено, что от телят в большинстве случаев выделяется *E. coli* с пилевым антигеном A20 (37,5 %) и K99 (25,0 %), а от поросят – K88 (42,9 %) и 987P (19,0 %). В меньшей степени выделяются эшерихии с фимбриальным адгезином F41, как у поросят (9,5 %), так и у телят (6,3 %).

3.2.3 Генетическая характеристика патогенных *E. coli*, выделенных от телят и поросят, и штаммов-кандидатов для производства колианатоксина

Генетические исследования патогенных штаммов *E. coli* показали, что многие из этих штаммов приобрели факторы вирулентности посредством горизонтального переноса генов, процесса, посредством которого бактерии могут приобретать новые гены от других бактерий. Это может произойти с помощью таких процессов, как конъюгация, трансформация или трансдукция [15].

Генетическое разнообразие патогенных штаммов *E. coli* весьма значительно. Они обычно классифицируются на различные категории в зависимости от сочетания факторов вирулентности, которыми они обладают. Факторы вирулентности инфекционного агента – это молекулы или белки, которые позволяют бактериям вызывать заболевание. У *E. coli* факторы вирулентности патогенных штаммов включают в себя токсины, адгезины и фимбрии [181].

Результаты наших исследований (таблица 10) эпизоотических *E. coli* с использованием ПЦР анализа показали, что из 135 изолятов способностью вырабатывать экзотоксины могло обладать 68 (50,4 %), поскольку у них были выявлены соответствующие гены токсинов. У остальных 67 (49,6%) изолятов маркеров токсигенности выявлено не было. Из 68 эшерихий, обладающих генами токсинов, на долю выделенных от поросят приходилось 40 (58,8 %), а телят – 28 (41,2 %).

На основании проведенных генетических исследований все тестируемые изоляты, обладающие маркерами токсинов были разделены на восемь патовариантов: 1) обладающий только геном LT; 2) только геном ST-I, II; 3) только

геном STX 2; 4) только геном STX 1, 2; 5) генами LT, ST-II; 6) генами LT, STX 1, 2; 7) генами LT, ST I, STX 2; 8) генами LT, ST-I и II, STX 2. От поросят были выделены семь патовариантов, а от телят – пять. Ни разу не выделялись: от поросят – патовариант с генами STX 1 и 2, от телят два патоварианта – LT, ST-II и LT, ST-I, ST-II, STX 2.

Таблица 10 – Наличие регистрируемых маркеров токсигенности у патогенных кишечных палочек, выделенных от телят и поросят

Генетический маркер токсигенности	Выделено всего токсигенных эшерихий / %	Из числа изолятов, выделенных от поросят / %	Из числа изолятов, выделенных от телят / %
LT	34 / 50,0	21 / 51,5	13 / 46,4
ST-I, II	4 / 5,8	2 / 5	2 / 7,1
STX 2	16 / 23,5	12 / 30	4 / 14,3
STX 1, 2	3 / 4,4	–	3 / 10,7
LT, ST-II	2 / 2,9	2 / 5	–
LT, STX 1, 2	6 / 8,8	1 / 2,5	5 / 17,9
LT, ST I, STX 2	2 / 2,9	1 / 2,5	1 / 3,6
LT, ST-I, ST-II, STX 2	1 / 1,5	1 / 2,5	–
Всего	68/100	40/100	28/100

Как видно из таблицы 9 и рисунка 5 наиболее часто регистрировали *E. coli* с геном LT (50,0 %), из них в 30,9 % случаях они выделялись от поросят и в 19,1 % – от телят. Вторым по частоте встречаемости был патовариант с геном STX 2, он был обнаружен в 23,5 % случаев, из них в 17,6 % у эшерихий выделенных от поросят и 5,9 % от телят. В 8,8 % случаях встречался патовариант с генами LT, STX 1 и 2, который в подавляющем большинстве случаев был изолирован от телят.

От поросят (рисунок 6) в подавляющем большинстве случаев, а именно в 52,5 %, выделялись *E. coli*, обладающие только геном LT, в 30,0 % только геном STX 2, остальные варианты выделялись в мизерных количествах от 2,5 до 5 %.

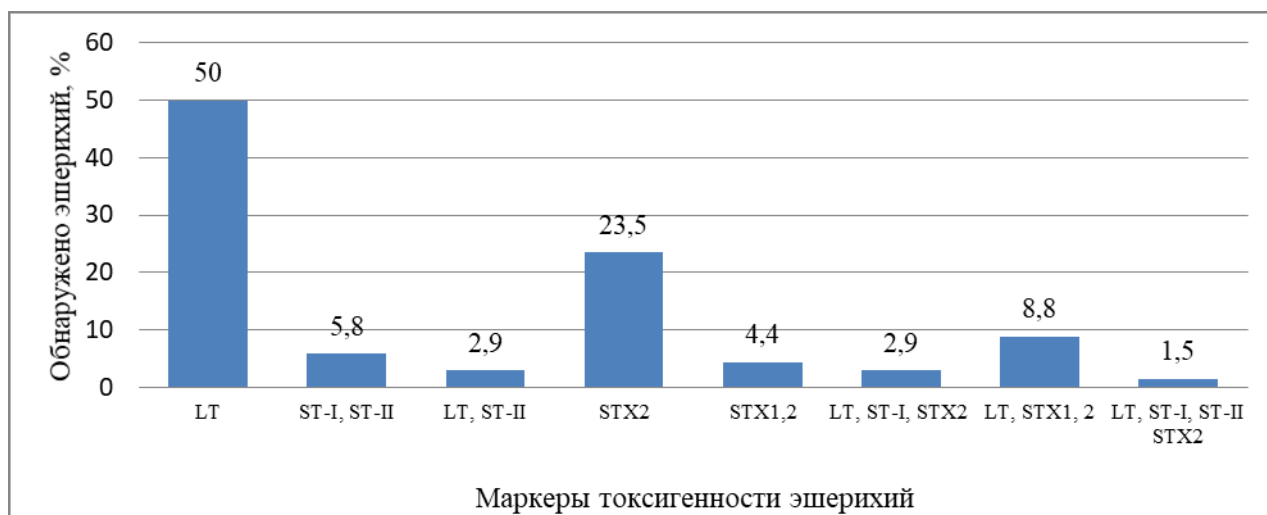


Рисунок 5 – Количество выделенных штаммов эшерихий с наличием маркеров токсигенности

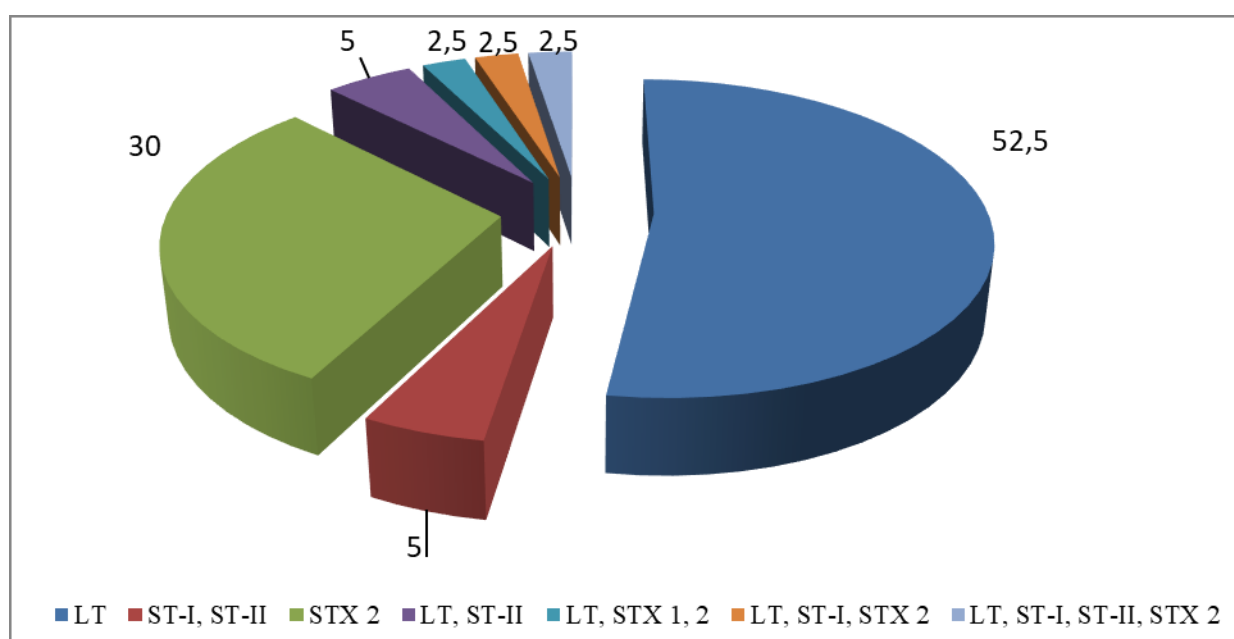


Рисунок 6 – Наличие маркеров токсигенности у эшерихий, выделенных от поросят

От телят (рисунок 7) также, как и от поросят чаще всего выделяются *E. coli*, обладающие геном LT – в 46,4 % случаев. Вторым по частоте встречаемости был вариант с генами LT, STX 1, 2 – 17,9 %, варианты с генами только STX 2 обнаруживались в 14,3 %, а STX 1, 2 – в 10,7 %. Остальные два варианта встречались в минорных количествах.

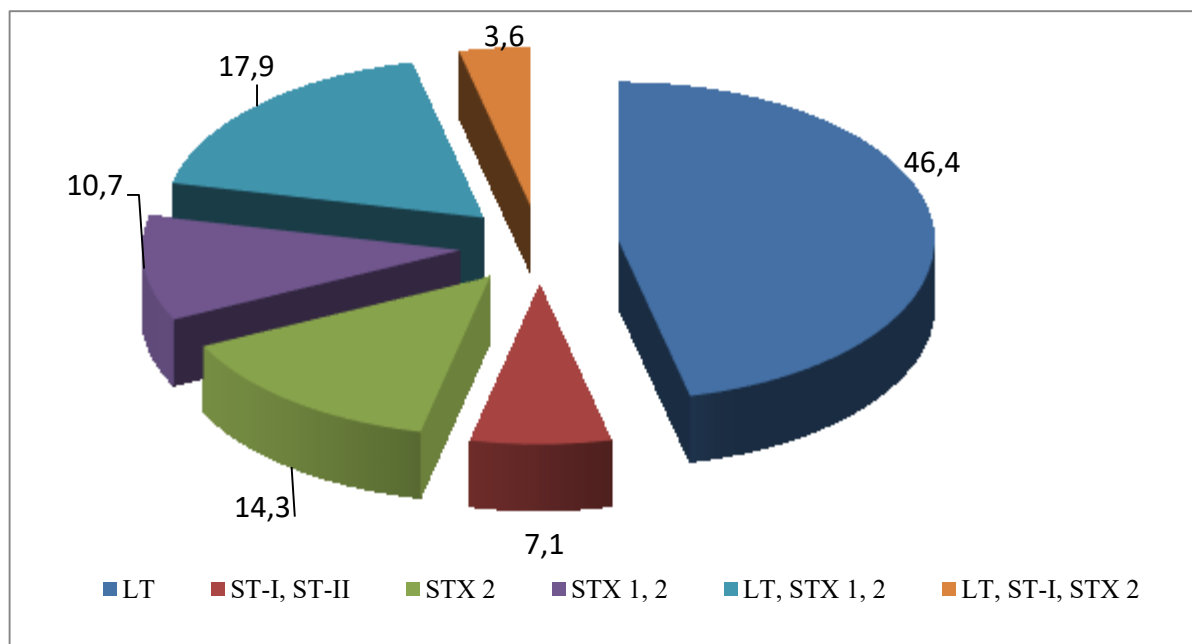


Рисунок 7 – Наличие маркеров токсигенности у эшерихий, выделенных от телят

Следует отметить тот факт, что как от поросят, так и телят выделялись изоляты обладающие сразу несколькими маркерами токсинов, такими как LT, ST и STX. Их было не много, всего 4,4 %, однако важен сам факт их наличия, поскольку он свидетельствует о возможности появления особых патотипов эшерихий, которые способны вызывать заболевания (диарею) у широкого круга биологических объектов.

В исследованиях разных авторов показано, что экзотоксинообразование у *E. coli* тесно связано с наличием у них специфических фимбриальных факторов адгезии, так как гены, ответственные за эти два признака, могут быть локализованы на одной плазмиде. Было установлено, что адгезинпозитивные штаммы эшерихий образуют энтеротоксины в 96 %, а адгезиннегативные – только в 12 % случаев [171; 181]. Для подтверждения данного факта нами тоже были проведены исследования по выявлению взаимосвязи между способностью кишечной палочки продуцировать фимбриальные антигены и энтеротоксины. С этой целью были изучены 68 изолятов *E. coli*, у которых ранее определили наличие маркеров экзотоксинов и которые на основании полученных результатов были разделены на восемь патотипов.

Как показали исследования (таблица 11), среди этих изолятов у 38 (55,9 %) обнаружили специфические фимбрии – K99, K88, 987P, A20, F41, а у 30 (44,1 %) их не было. Следовательно, действительно, патоварианты обладающие известными специфическими фимбриями, чаще всего обладают способностью к токсинообразованию. Однако разница количества патовариантов, обладающих специфическими фимбриями и не обладающие ими, не особенно большая – 11,8 %.

Таблица 11 – Наличие генов токсинов у штаммов *E. coli*, обладающих и не обладающих специфическими фимбриями

Генотип <i>E. coli</i>	Количество токсигенных штаммов, %		
	всего	обладающих специфическими фимбриями (K99, K88, 987P, A20, F41)	не обладающих специфическими фимбриями
LT	33 (48,5)	22 (32,4)	11 (16,2)
ST I и II	4 (5,9)	2 (2,9)	2 (2,9)
LT, ST II	2 (2,9)	–	2 (2,9)
STX 2	16 (23,5)	5 (7,4)	11 (16,2)
STX 1, 2	3 (4,4)	1 (1,5)	2 (2,9)
LT, ST I, STX 2	3 (4,4)	3 (4,4)	–
LT, STX 1, 2	6 (8,8)	4 (5,9)	2 (2,9)
LT, ST I и II, STX 2	1 (1,5)	1 (1,5)	–
Итого	68 (100)	38 (55,9)	30 (44,1)

В большей степени взаимосвязь между наличием гена токсина и специфических фимбрий прослеживалась у изолятов *E. coli* с наличием адгезинов и маркера LT. Так, среди адгезинпозитивных изолятов было 60,5 % обладающих геном термолабильного токсина, в то время как среди адгезиннегативных таких было 36,7 %. В тоже время обратную ситуацию наблюдали у адгезиннегативных *E. coli*, которые в 2 раза чаще, чем адгезинпозитивные, обладали маркером STX 2 типа. По всей вероятности, данное обстоятельство может свиде-

тествовать о том, что для реализации STX 2 в большей степени принимают участие нефимбриальные факторы адгезии. В отношении других патотипов достоверного различия обнаружить не удалось, из чего следует, что выявление специфических фимбрий не всегда может свидетельствовать о патогенности (токсигенности) эшерихий, также как и об отсутствии их авирулентности.

На следующем этапе была проведена генетическая характеристика штаммов-кандидатов для производства колианатоксина. В результате длительного хранения и неоднократного анализа геномов у клинических изолятов *E. coli* были отобраны четыре кандидатных вакцинных штамма под внутренним обозначением KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933, у которых стабильно сохранялись гены LT, ST, STX типа 1, 2. Данные штаммы были выделены из химуса кишечника павших телят и поросят. ПЦР анализ с использованием специфических праймеров с последующей визуализацией в агарозном геле показал (рисунок 8), что маркеры токсигенности были у всех четырех образцов *E. coli*, за исключением образца № 1 (KubGAU B-533), у которого отсутствовал ген, отвечающий за продуцирование термостабильного токсина ST-I.

Для более полной характеристики штаммов-кандидатов были проведено их полногеномное секвенирование, сборка и аннотация геномов. Результаты этой работы отражены в таблице 12.

Наибольшее значение прочтений у штамма KubGAU B-546 (811 581), наименьшее – у штамма KubGAU B-923 (192 647). Размер генома у четырех образцов варьирует от 5 109 654 (KubGAU B-546) до 5 276 368 п.н. (KubGAU B-933), что примерно совпадает с ожидаемым размером генома-референса из базы данных NCBI – 5 498 578 п.н. (номер в GenBank – GCA_000008865.2). Содержание G + C у всех образцов приблизительно одинаковое – варьирует от 50,0 до 50,5 %. Число контигов наибольшее у KubGAU B-923 – 1 113, наименьшее – у KubGAU B-546 (326). Число последовательностей, кодирующих белок (CDSs) примерно в одинаковом диапазоне у всех образцов – от 5 087 (KubGAU B-546) до 5 704 (KubGAU B-533). Число рРНК варьирует от 84 (KubGAU B-533) до 97 (KubGAU B-923). Интересно, что для штамма KubGAU B-546 было выявлено наименьшее

количество кодирующих последовательностей и меньший размер генома, в то время как его расчетное покрытие было самым высоким. Проекты геномов по результатам секвенирования были депонированы в базу данных NCBI.

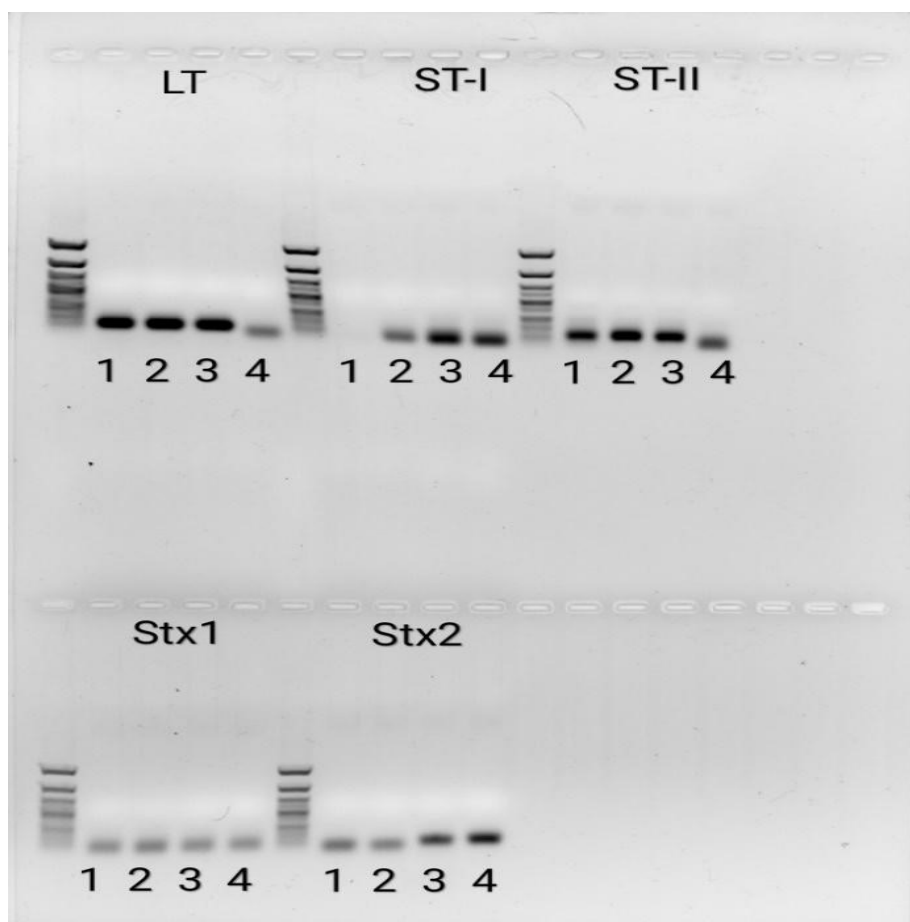


Рисунок 8 – Визуализированные результаты ПЦР *E. coli* с праймерами LT, ST-I, ST-II, STX 1, STX 2:

1 – *E. coli* 533; 2 – *E. coli* 546; 3 – *E. coli* 923; 4 – *E. coli* 933

Таблица 12 – Данные, полученные после сборки и аннотации геномов *E. coli*

Характеристика	Изоляты кишечной палочки, подвергнувшиеся полногеномному секвенированию			
	KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933
1	2	3	4	5
Число прочтений	211 196	811 581	192 647	235 624
Размер генома	5 274 955	5 109 654	5 271 013	5 276 368

Продолжение таблицы 12

1	2	3	4	5
Содержание G + C (%)	50,5	50,5	50,0	50,0
Контиги N50	15 686	89 082	21 611	29 504
Контиги L50	102	18	77	50
Число контигов	1 006	326	1 113	740
Число последовательностей, кодирующих белок (CDSs)	5 704	5 087	5 696	5 510
Число рРНК	84	90	97	86
Число тРНК	67	71	78	70

Результаты аннотации прокариотических геномов показали наличие в геномах бактерий последовательностей, кодирующих продуцирование следующих токсинов: KubGAU B-923 и KubGAU B-933 – шига-токсин STX 2e видов А и В, KubGAU B-533 и KubGAU B-546 – термолабильный энтеротоксин LT видов А и В, термостабильный энтеротоксин ST-II. Сравнение данных, полученных после аннотации PGAP, с результатами ПЦР-анализа показало, что только три из пяти аминокислотных последовательностей и кодирующих ДНК-последовательностей были выявлены. Такие результаты могут являться последствием наличия изменений в геноме, затронувших значимую часть гена, в то время как места присоединения праймеров остались неизменными.

При анализе результатов полногеномного секвенирования изучаемых изолятов *E. coli* было установлено, что наряду с общеизвестными маркерами токсигенности в виде LT, ST и STX токсинов, они обладали генами цикломодулинов (субтилазный токсин) и пороформирующих токсинов: колицинов, α -гемолизина и гемолизина E (таблица 13).

Так, штамм KubGAU B-533 помимо нуклеотидных последовательностей, отвечающих за выработку LT и ST-II, имел гены порообразующего бактериоцина колицина E1, белок вырабатывающего колицин V и гемолизина E.

Таблица 13 – Внутривидовое разнообразие генов, кодирующих продукцию различных видов экзотоксинов у патогенных эшерихий

Вид экзотоксина	Название гена	Изоляты кишечной палочки, подвергнувшиеся полногеномному секвенированию			
		KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933
Термолабильный токсин, субъединица В	<i>eltB</i>	+	+	–	–
Термолабильный токсин, субъединица А	<i>eltA</i>	+	+	–	–
Термостабильный токсин ST-II	<i>stb</i>	+	+	–	–
Шигаподобный токсин STX 2e субъединица А STX 2e субъединица В	<i>stx2eA</i>	–	–	+	+
Цикломодулины субъединица, связывающая токсин семейства субтилаз AB5	<i>subAB</i>	–	–	+	+
Порообразующий бактериоцин колицин E1	<i>cea</i>	+	–	–	–
Порообразующий бактериоцин колицин В	<i>cba</i>	–	+	–	–
Белок, вырабатывающий колицин V	<i>cvpA</i>	+	+	+	+
Токсин RTX гемолизин HlyA	<i>hlyA</i>	–	+	+	+
Гемолизин HlyE	<i>hlyE</i>	+	+	+	+

Штамм KubGAU B-546 обладал схожими генетическими токсигенными свойствами с предыдущим изолятом, за исключением отсутствия гена, кодирующего колицин E1 и наличия токсина RTX α -гемолизина.

В свою очередь, штаммы KubGAU B-923 и KubGAU B-933 были идентичны по генетическому набору экзотоксинов, несмотря на то, что были выделены

из разных биологических моделей (поросенка и теленка соответственно). Эти штаммы обладали генами, отвечающими за выработку токсина STX 2e, субтильного токсина AB5, колицина V, токсина RTX α -гемолизина и гемолизина E.

В результате секвенирования и сборки геномов были получены проекты геномов с размерами 5 274 955 п.н. (KubGAU B-533), 5 109 654 п.н. (KubGAU B-546), 5 271 013 п.н. (KubGAU B-923), 5 276 368 п.н. (KubGAU B-933). Образцы были депонированы в базу данных NCBI под общим номером BioProject PRJNA887444. Также каждый штамм бактерий был зарегистрирован в различных базах под индивидуальными номерами: *E. coli* KubGAU B-533 – BioSample (SAMN31169425), GenBank (ASM2566039v1), Sequence Read Archive (SRA) (SRS15925162); *E. coli* KubGAU B-546 – BioSample (SAMN31181481), GenBank (ASM2581757v1), SRA (SRS15925163); *E. coli* KubGAU B-923 – BioSample (SAMN31181488), GenBank (ASM2581758v1), SRA (SRS15925164); *E. coli* KubGAU B-933 – BioSample (SAMN31185483), GenBank (ASM2567444v1), SRA (SRS15925165) [30].

Кроме того, указанные штаммы были депонированы в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» под номерами B-15569, B-15570, B-15571, B15572.

3.3 Получение, индикация экзотоксинов *E. coli* и их влияние на гематологический и иммунологический статус животных

Проведенные генетические исследования показали высокую вариабельность специфических генов токсигенности у эпизоотических штаммов *E. coli* [30]. Однако само наличие генов не является свидетельством того, что они реализуют свои функции, поэтому были проведены исследования по выявлению фенотипических способностей штаммов-кандидатов. Для этого использовали различные методики, позволяющие осуществлять определение токсигенности, в частности – биотестирование на инфузориях-стилонихиях (*Stylonychia mytilus*),

плантарный тест и тест расширения тонкого отдела кишечника у белых мышей [38; 42; 49; 61; 67; 106].

В исследованиях на стилонихиях было установлено (таблица 14), что 24-часовые культуральные среды исследуемых штаммов *E. coli* угнетали жизнеспособность инфузорий в среднем на 10,4–16,7 %, тогда как стерильный питательный бульон на 5,5 %. Наибольшим ингибирующим действием обладали культуры штаммов KubGAU B-533 и KubGAU B-933, которые вызывали гибель 16,7 и 16,5 % инфузорий соответственно.

Таблица 14 – Выживаемость инфузорий после контакта с 24- и 72-часовыми бульонными культурами тест-штаммов эшерихий ($M \pm m$)

Штамм	Количество выживших <i>Stylonychia mytilus</i> после контакта с бульонными культурами эшерихий, %	
	24-часовая культура	72-часовая культура
KubGAU B-533	83,30 $\pm$ 3,50*	2,50 $\pm$ 0,10*
KubGAU B-546	89,60 $\pm$ 4,30*	4,40 $\pm$ 0,20*
KubGAU B-923	84,50 $\pm$ 2,60*	2,20 $\pm$ 0,12*
KubGAU B-933	83,50 $\pm$ 5,70*	2,70 $\pm$ 0,17*
Контроль МПБ	94,50 $\pm$ 6,20*	95,70 $\pm$ 7,20*
Примечание: * – $P \leq 0,05$.		

Для стилонихий более токсичными оказались 72-часовые культуры. После их контакта с культурами тест-штаммов погибало от 95,6 до 97,8 % инфузорий, тогда как при контакте со стерильным бульоном – только 4,3 %. Наименьшее количество выживших инфузорий было после их контакта с культурами штаммов KubGAU B-923 и KubGAU B-533 – 2,2 и 2,5 % соответственно.

Таким образом, биотест на одноклеточном организме инфузории *Stylonychia mytilus* подтвердил способность исследуемых штаммов к экзотоксинообразованию.

Дополнительными методами биотестирования наличия в культуральной среде экзотоксинов являлись – плантарный тест (на выявление LT) и тест расширения тонкого отдела кишечника (на выявление ST) на белых мышах.

Результаты этого исследования представлены в таблице 15. Было установлено, что при введении в плантарную область белым мышам бесклеточных культур штаммов KubGAU B-533 и KubGAU B-546 у них развивался выраженный отёк, величина которого соответственно составила 93,5 и 111,3 мг. В меньшей степени регистрировали отек лапок у мышей, которым вводили культуральную взвесь штаммов KubGAU B-923 и KubGAU B-933 – 74,7 и 78,4 мг соответственно. В контроле онкогенный эффект составил всего $14,5 \pm 3,1$ мг.

Таблица 15 – Индикация токсигенности культур эшерихий в тестах на белых мышах ($n = 10$, $M \pm m$)

Показатель	Культуральная взвесь штамма				Контроль МПБ
	KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933	
Плантарный тест, мг	$93,5 \pm 5,4^*$	$111,3 \pm 8,2^*$	$74,7 \pm 4,2^*$	$78,4 \pm 4,6^*$	$14,5 \pm 3,1^*$
Коэффициент расширения тонкого отдела кишечника	$0,240 \pm 0,020^*$	$0,180 \pm 0,007^*$	$0,110 \pm 0,010^*$	$0,120 \pm 0,020^*$	$0,020 \pm 0,003$
Примечание: * – $P \leq 0,05$.					

В тесте расширения тонкой кишки наибольшее значение было получено от введения бесклеточной бульонной культуры штамма KubGAU B-533, которая обусловила увеличение массы кишки на 0,24 ед, в то время как в контроле этот показатель был равен 0,02 ед. У мышей-сосунов, которым вводили культуру штамма KubGAU B-546, также зарегистрировали достоверное увеличение коэффициента расширения тонкого кишечника, который составил 0,18 ед. После введения культур штаммов KubGAU B-923 и KubGAU B-933 у мышей также увеличивалась масса кишечника, но значительно меньше, чем от KubGAU B-533 и KubGAU B-546 – на 0,11 и 0,12 ед. соответственно.

При тестировании штаммов коммерческой тест-системой RIDASCREEN VEROTOXIN (Германия) на выявление шигатоксинов было установлено, что

в культурах штаммов KubGAU B-923 и KubGAU B-933 действительно присутствует STX (рисунок 9). Количество продуцируемого данными штаммами этого токсина было в 1,5–2,5 раза более большим, по сравнению с контрольным образцом.

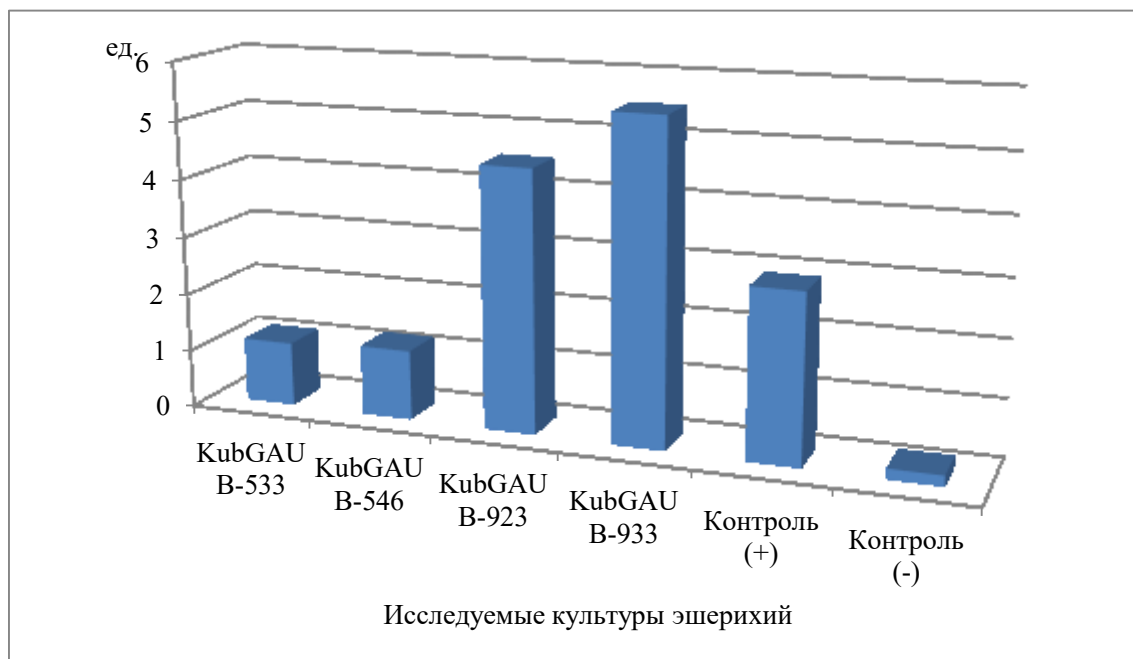


Рисунок 9 – Продукция тест-штаммами эшерихий STX

Штаммы KubGAU B-533 и KubGAU B-546 показали пороговые значения уровней содержания STX экзотоксинов, что интерпретируется как отрицательный результат, и это соотносится с проведенными ранее генетическими исследованиями и отсутствием у них генов шигаподобных токсинов.

Таким образом, в ходе проведенных исследований у исследуемых штаммов эшерихий была подтверждена реализация генов экзотоксинообразования. При этом, тестированием на инфузориях-стилонихиях удалось выявить их общую токсичность для биообъектов. В плантарном тесте на белых мышах, специфичном для выявления термалабильного токсина, установили действительно его продукцию штаммами KubGAU B-533 и KubGAU B-546. Результатами определения коэффициента расширения тонкого отдела кишечника у белых мышей установили способность штамма KubGAU B-546 продуцировать в большей степени

термостабильный экзотоксин. А с помощью иммуноферментного анализа, с использованием коммерческих тест-систем RIDASCREEN VEROTOXIN подтвердили способность штаммов KubGAU B-923 и KubGAU B-933 продуцировать STX токсины.

На следующем этапе изучили влияние экзотоксинов на гематологический и иммунобиологический статус животных.

Установлено, что токсигенный потенциал диареегенных *E. coli* связан с выработкой термолабильных (LT), термостабильных (ST), субтилазных (Sub-AB5), шигаподобных (STX), порообразующих (RTX), цитолетальных (Clt), цитонекротических (CNF) энтеротоксинов и различных типов гемолизinov. Их патологическое действие гораздо шире, чем только пищеварительный тракт. Помимо диареегенных свойств экзотоксины эшерихий способны влиять в целом на весь организм, что проявляется цитопатогенным, общетоксическим и иммунодеприсивным состоянием [221; 284; 327; 330; 407; 485]. Поскольку штаммы-кандидаты на изготовление вакцинного препарата, помимо ключевых факторов патогенности – LT, ST и STX, обладают и другими патогенными свойствами (продукция гемолизinov, субтилазного токсина, колицина) [30], было проведено исследование влияния бульонных культур *E. coli*, содержащих комплекс токсических факторов, на гематологические показатели и цитокиновый профиль лабораторных животных [25]. Данные исследования, как мы считаем, позволят увидеть особенности развития эшерихиозной инфекции, обусловленной различными патовариантами *E. coli*.

Изменения, произошедшие в картине крови у животных, которым вводили безмикробные токсинсодержащие супернатанты *E. coli* и динамика этих изменений отражены в таблице 16 и рисунках 10–17. Как видно из представленного материала через 3 ч после введения культуры у подопытных крыс 1-й группы по сравнению с контролем (6-я группа) на 13,9 % увеличилась концентрация гемоглобина, на 7,8 % – гематокрит, на 15,5 % – количество тромбоцитов, на 28,1 % – нейтрофилов, но при этом на 31,6 % уменьшилось количество лимфоцитов. У крыс 2-й группы на 33,9 % уменьшилось количество лейкоцитов и на 28,8 % в их пуле количество лим-

фоцитов, но при этом на 16,5 % увеличилось количество тромбоцитов, на 27,2 % – нейтрофилов. У животных 3-й группы на 17,1 % уменьшилось количество лейкоцитов и на 26,9 % в их составе количество лимфоцитов, на 9,8 % – эритроцитов, на 13,6 % – тромбоцитов, но на 16,3 % увеличилось относительное количество нейтрофилов и на 9,8 % – моноцитов. У крыс 4-й опытной группы на 6,8 % уменьшилось количество тромбоцитов, на 32,7 % – лимфоцитов, но при этом увеличилось количество моноцитов на 13,9 %, нейтрофилов – на 9,7 % и эозинофилов – на 9,2 %.

Таблица 16 – Гематологические показатели у крыс после внутрибрюшинного введения токсинов *E.coli* (n = 10, M ± m)

Показатель	Группа					
	1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6	7
Через 3 ч						
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,70 ± 0,20*	6,50 ± 0,08*	8,10 ± 0,06*	9,90 ± 0,09*	9,30 ± 0,08	9,80 ± 0,09
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,30 ± 0,10	7,40 ± 0,06	6,40 ± 0,10*	7,50 ± 0,08*	7,90 ± 0,09	7,10 ± 0,07
Гемоглобин, г/л	139,2 ± 6,5*	124,2 ± 7,2	126,4 ± 6,4	127,6 ± 7,6	142,2 ± 4,4	122,4 ± 3,8
Гематокрит, %	35,5 ± 3,6	38,3 ± 2,8	32,8 ± 2,8	34,1 ± 3,1	39,1 ± 2,2	38,5 ± 2,4
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	854,3 ± 38,4	861,2 ± 24,7	641,5 ± 23,8*	689,7 ± 22,4*	877,4 ± 24,7	739,3 ± 15,3
Лимфоциты, %	26,6 ± 2,3	29,4 ± 2,7	31,3 ± 2,9	25,5 ± 2,2*	51,9 ± 4,2	58,2 ± 3,7
Моноциты, %	5,8 ± 0,4	6,1 ± 0,5	12,7 ± 0,7*	16,8 ± 1,1*	3,40 ± 0,04	2,90 ± 0,03
Нейтрофилы, %	66,7 ± 4,2	65,8 ± 5,2	54,9 ± 4,8*	48,3 ± 3,5*	43,8 ± 3,5	38,6 ± 2,4
Эозинофилы, %	0,90 ± 0,03	2,80 ± 0,04	0,90 ± 0,03	9,30 ± 0,04*	0,80 ± 0,04	0,10 ± 0,03
Базофилы, %	0	0	0,20 ± 0,02	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,03	0,20 ± 0,04
Через 6 ч						
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,10 ± 0,30*	7,40 ± 0,10*	9,70 ± 0,08*	10,30 ± 0,10*	12,20 ± 0,10	9,60 ± 0,20

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,40 $\pm 0,04$	7,40 $\pm 0,08$	5,70 $\pm 0,04^*$	7,10 $\pm 0,03$	9,70 $\pm 0,04$	7,30 $\pm 0,05$
Гемоглобин, г/л	123,3 $\pm 5,6$	118,2 $\pm 7,4^*$	115,4 $\pm 6,5$	122,6 $\pm 7,2$	133,8 $\pm 8,6$	127,2 $\pm 6,5$
Гематокрит, %	$32,5 \pm 2,5$	$33,4 \pm 2,8$	$30,8 \pm 2,4$	$31,8 \pm 2,2$	$39,8 \pm 3,2$	$39,2 \pm 3,4$
Тромбоциты, $10^9/л$	621,3 $\pm 23,2$	610,4 $\pm 25,3$	490,5 $\pm 28,5^*$	488,7 $\pm 24,2^*$	823,8 $\pm 24,3$	696,3 $\pm 23,8$
Лимфоциты, %	$24,9 \pm 1,2^*$	$23,5 \pm 1,4^*$	$27,1 \pm 1,2^*$	$25,2 \pm 1,8^*$	$50,4 \pm 2,6$	$61,4 \pm 2,8$
Моноциты, %	2,40 $\pm 0,04$	3,70 $\pm 0,06$	5,10 $\pm 0,02^*$	5,90 $\pm 0,04^*$	4,50 $\pm 0,02$	3,60 $\pm 0,04$
Нейтрофилы, %	$71,6 \pm 4,3^*$	$71,8 \pm 3,8^*$	$68,1 \pm 4,2^*$	$60,3 \pm 3,2^*$	$42,8 \pm 3,6$	$34,8 \pm 2,8$
Эозинофилы, %	0,70 $\pm 0,02$	0,80 $\pm 0,04$	1,00 $\pm 0,02$	6,80 $\pm 0,20^*$	2,00 $\pm 0,09$	0,20 $\pm 0,02$
Базофилы, %	0,40 $\pm 0,04$	0,20 $\pm 0,01$	0,80 $\pm 0,04$	2,10 $\pm 0,09^*$	0,20 $\pm 0,01$	0
Через 12 ч						
Лейкоциты, $10^9/л$	7,30 $\pm 0,20^*$	8,60 $\pm 0,09$	7,70 $\pm 0,40^*$	9,80 $\pm 0,06$	9,30 $\pm 0,08$	8,20 $\pm 0,20$
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,10 $\pm 0,07^*$	7,10 $\pm 0,08$	5,30 $\pm 0,07^*$	6,70 $\pm 0,04$	8,30 $\pm 0,10$	6,90 $\pm 0,09$
Гемоглобин, г/л	112,3 $\pm 7,5^*$	110,4 $\pm 5,8^*$	98,2 $\pm 6,7^*$	103,6 $\pm 8,5$	129,5 $\pm 8,3$	126,7 $\pm 7,4$
Гематокрит, %	$28,1 \pm 1,4^*$	$30,7 \pm 2,2$	$26,5 \pm 1,8^*$	$28,4 \pm 1,7^*$	$42,2 \pm 3,8$	$39,1 \pm 3,4$
Тромбоциты $10^9/л$	543,4 $\pm 24,3$	560,2 $\pm 34,5$	355,7 $\pm 12,4^*$	382,5 $\pm 12,8^*$	776,3 $\pm 26,4$	618,4 $\pm 25,8$
Лимфоциты, %	$24,6 \pm 1,2^*$	$26,4 \pm 1,4^*$	$20,1 \pm 1,6^*$	$20,9 \pm 1,2^*$	$52,2 \pm 2,4$	$57,8 \pm 2,8$
Моноциты, %	$2,30 \pm 0,04$	$2,70 \pm 0,02$	$5,10 \pm 0,09$	$7,20 \pm 0,07$	$6,50 \pm 0,08$	$5,50 \pm 0,06$
Нейтрофилы, %	$72,2 \pm 2,8^*$	$70,2 \pm 3,1^*$	$73,3 \pm 3,7^*$	$65,8 \pm 2,5^*$	$39,4 \pm 2,2$	$35,2 \pm 2,4$
Эозинофилы, %	$0,90 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,04$	$1,40 \pm 0,04$	$5,30 \pm 0,07$	$1,80 \pm 0,06$	$1,00 \pm 0,06$
Базофилы, %	$0,20 \pm 0,04$	0	$0,20 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,04$

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7
Через 24 ч						
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	12,10 $\pm 0,20$	9,80 $\pm 0,08$	14,20 $\pm 0,10$	15,30 $\pm 0,20$	8,10 $\pm 0,40$	8,60 $\pm 0,20$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	5,70 $\pm 0,06^*$	5,10 $\pm 0,04^*$	5,30 $\pm 0,07^*$	4,90 $\pm 0,04^*$	7,50 $\pm 0,02$	6,60 $\pm 0,08$
Гемоглобин, г/л	91,7 $\pm 2,1^*$	93,1 $\pm 3,5^*$	87,5 $\pm 2,4^*$	89,5 $\pm 3,2^*$	129,2 $\pm 3,8$	125,2 $\pm 3,6$
Гематокрит, %	26,4 $\pm 1,2$	28,3 $\pm 1,4^*$	26,7 $\pm 1,3^*$	25,1 $\pm 1,3^*$	39,3 $\pm 1,7$	38,7 $\pm 1,8$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	525,7 $\pm 22,4$	539,3 $\pm 25,6$	258,4 $\pm 14,4^*$	244,2 $\pm 15,6^*$	622,5 $\pm 21,8$	684,3 $\pm 22,5$
Лимфоциты, %	$37,3 \pm 2,4^*$	$41,9 \pm 2,6^*$	$34,7 \pm 2,8^*$	$30,4 \pm 2,6^*$	$55,6 \pm 3,8$	$55,4 \pm 3,4$
Моноциты, %	2,70 $\pm 0,04$	2,50 $\pm 0,05$	3,30 $\pm 0,04$	6,60 $\pm 0,08^*$	3,00 $\pm 0,04$	3,60 $\pm 0,04$
Нейтрофилы, %	$58,8 \pm 1,8^*$	$54,8 \pm 2,3^*$	$60,1 \pm 2,4^*$	$60,8 \pm 3,2^*$	$39,8 \pm 2,6$	$40,0 \pm 1,8$
Эозинофилы, %	1,00 $\pm 0,04$	0,60 $\pm 0,04$	1,50 $\pm 0,05$	3,50 $\pm 0,08^*$	1,50 $\pm 0,05$	0,80 $\pm 0,04$
Базофилы, %	$0,20 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,04$	$0,70 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,03$	$0,20 \pm 0,04$
Примечание: * – $P \leq 0,05$.						

Через 6 ч после введения экзотоксинов в 1-й группе у животных на 25,6 % уменьшилось количество лейкоцитов, на 11,8 % – эритроцитов, на 10,8 % – тромбоцитов, на 6,5 % снизился уровень гематокрита. В лейкоформуле на 36,8 % увеличилась доля нейтрофилов и на 36,5 % снизилась доля лимфоцитов. У крыс из 2-й группы на 22,6 % уменьшилось количество лейкоцитов, на 12,4 % – тромбоцитов, на 37,9 % сократилась доля лимфоцитов, но одновременно на 37 % увеличилась доля нейтрофилов.

У животных 3-й группы на 21,5 % снизилось количество эритроцитов, на 29,6 % – тромбоцитов, на 8,2 % упало значение гематокрита, относительное количество лимфоцитов сократилось на 34,4 %, относительное количество

нейтрофилов увеличилось на 33,3 %. У крыс 4-й группы уровень гематокрита снизился на 7,2 %, количество тромбоцитов достоверно уменьшилось на 29,9 %, доля лимфоцитов в пуле клеток белой крови – на 36,4 % при одновременном увеличении доли нейтрофилов на 25,5 % и эозинофилов – на 6,6 %.

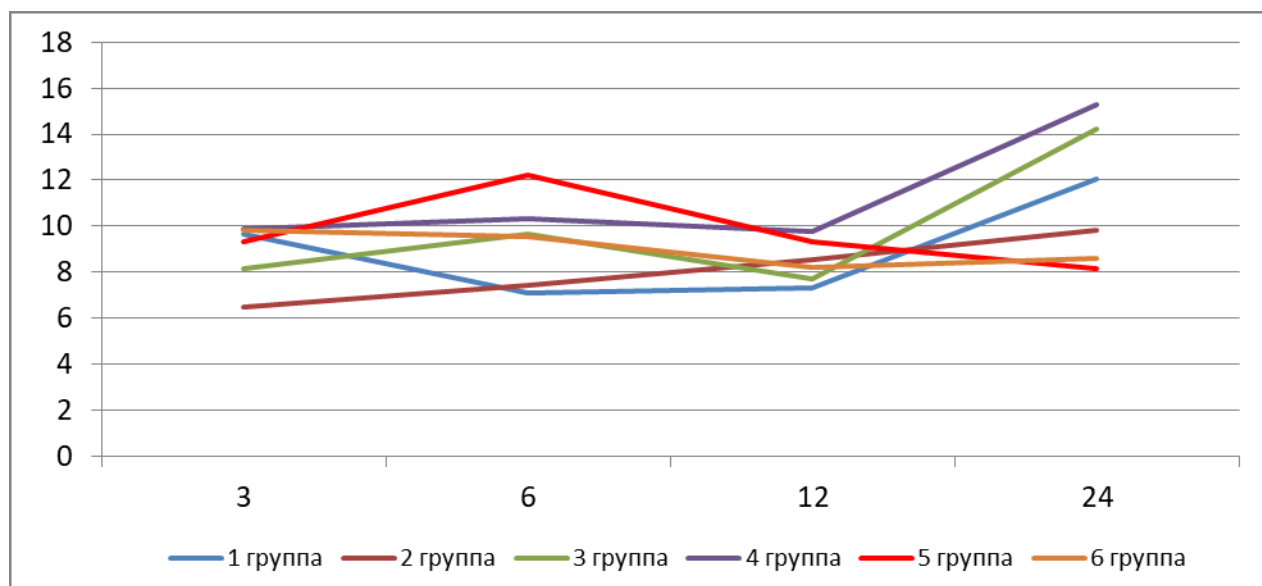


Рисунок 10 – Динамика изменения количества лейкоцитов в крови крыс после введения токсинов

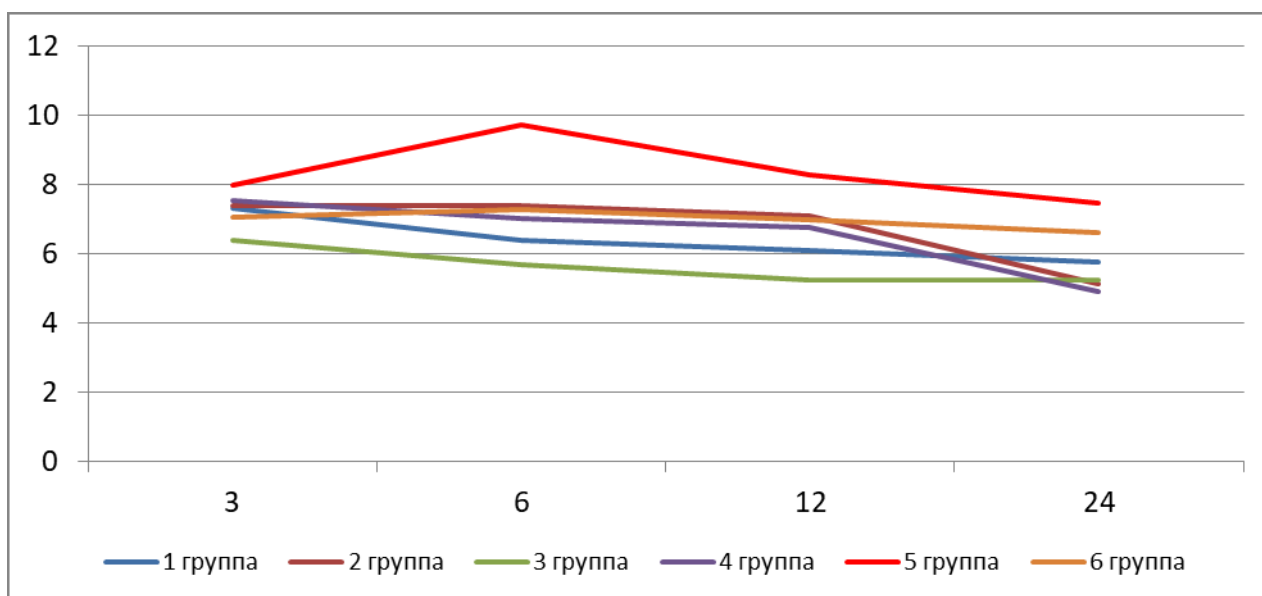


Рисунок 11 – Динамика изменения количества эритроцитов в крови крыс после введения токсинов

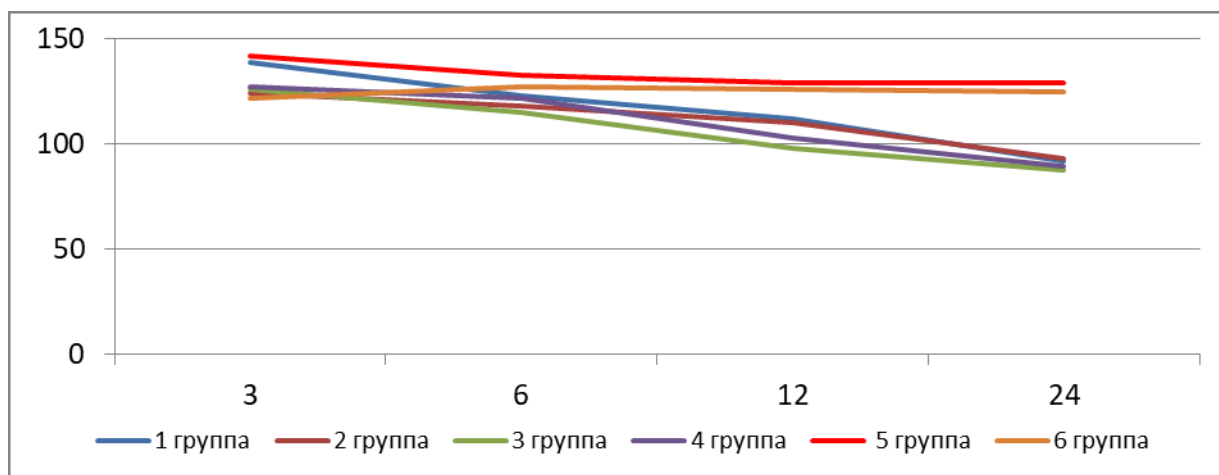


Рисунок 12 – Динамика содержания гемоглобина в крови крыс
после введения токсинов

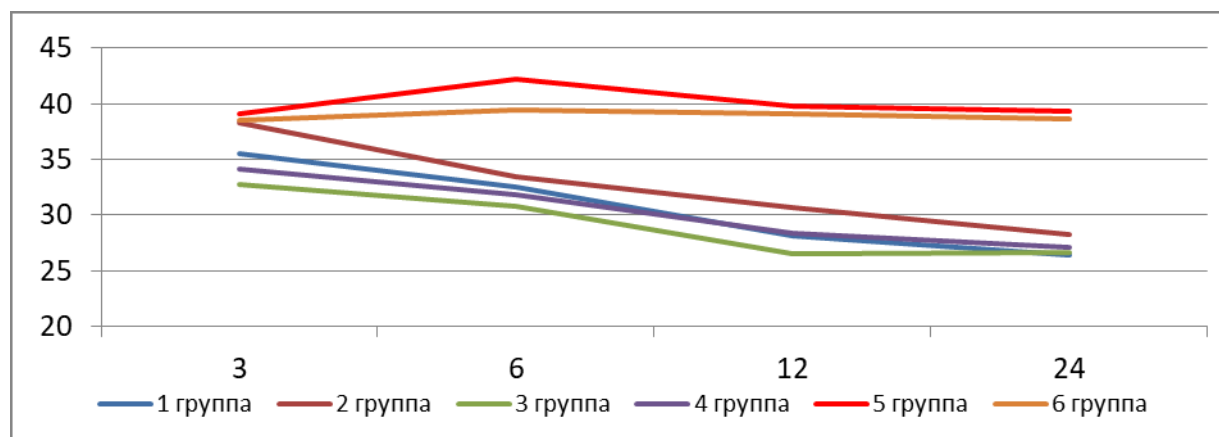


Рисунок 13 – Динамика изменения уровня гематокрита в крови крыс
после введения токсинов

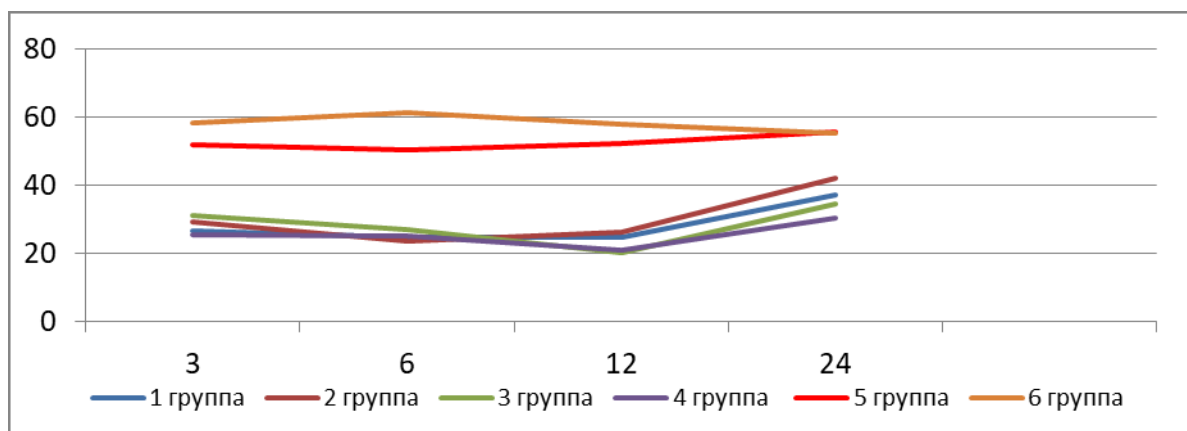


Рисунок 14 – Динамика изменения количества лимфоцитов в крови крыс
после введения токсинов

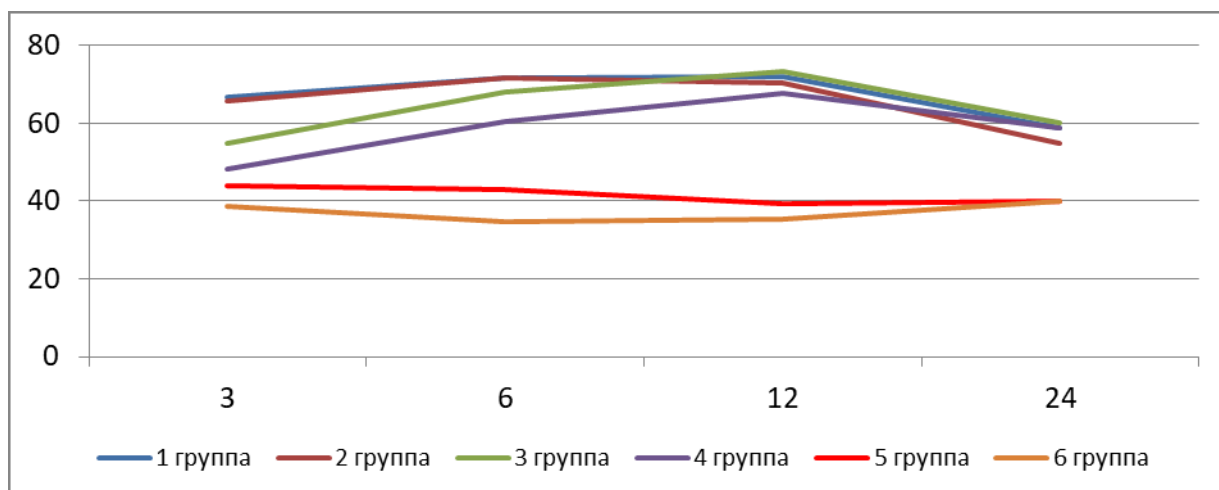


Рисунок 15 – Динамика изменения количества нейтрофилов в крови крыс после введения токсинов

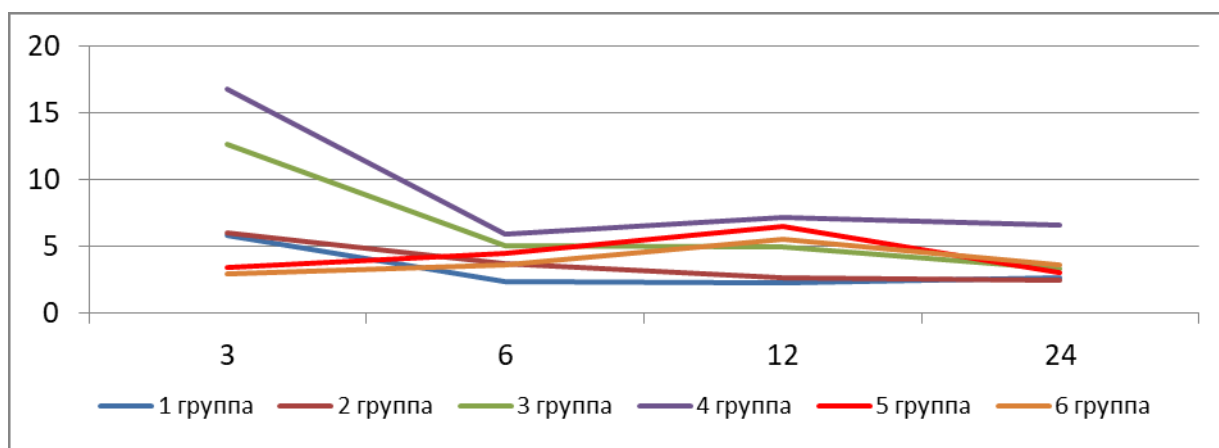


Рисунок 16 – Динамика изменения количества моноцитов в крови крыс после введения токсинов

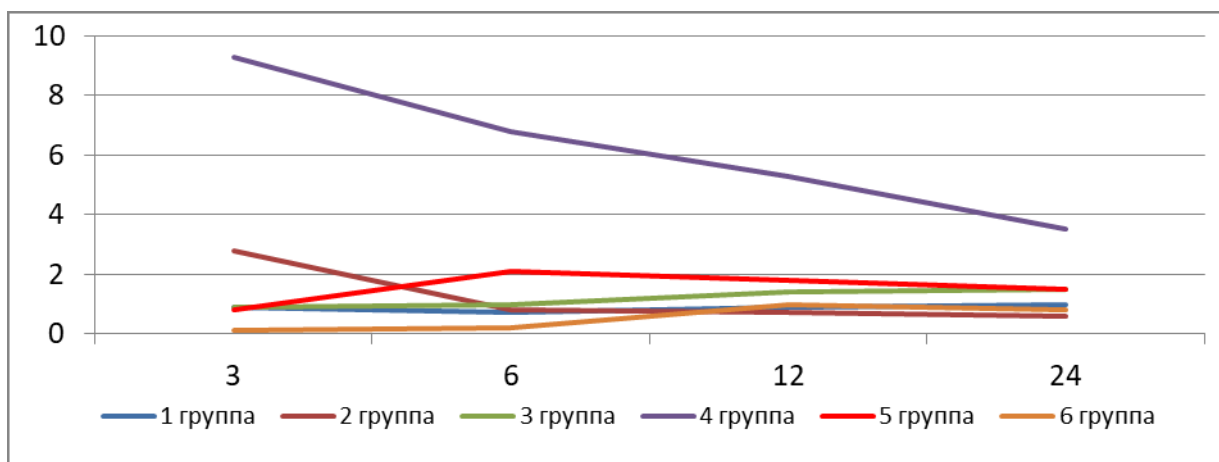


Рисунок 17 – Динамика изменения количества эозинофилов в крови крыс после введения токсинов

Через 12 ч после введения экзотоксинов в картине крови у подопытных крыс 1-й группы снизилось количество гемоглобина на 11,1 %, упал уровень гематокрита на 10 %, уменьшилось количество тромбоцитов на 12,1 % и лимфоцитов – на 33,2 %, но при этом на 36,8 % увеличилось количество нейтрофилов. У животных 2-й группы на 12,7 % снизилось количество гемоглобина, на 8,4 % уменьшился показатель гематокрита, на 9,4 % уменьшилось количество тромбоцитов, на 31,4 % – лимфоцитов, в тоже время на 35 % увеличилось относительное количество нейтрофилов. У крыс в 3-й группе на 24,8 % уменьшилось количество эритроцитов, на 24 % – гемоглобина, на 42,6 % – тромбоцитов, на 37,7 % – лимфоцитов, но на 38,1 % увеличилось количество нейтрофилов. У животных в 4-й группе на 19,4 % увеличилось количество лейкоцитов, при этом в их пуле на 36,9 % уменьшилось количество лимфоцитов, но на 30,6 % увеличилось количество нейтрофилов. Кроме того, на 18,3 % снизилось количество гемоглобина, на 10,7 % уменьшился показатель гематокрита, на 38,2 % – количество тромбоцитов.

Через 24 ч после введения экзотоксинов у крыс в 1-й группе на 40,2 % увеличилось содержание лейкоцитов, а в их составе по сравнению с предыдущими исследованиями увеличилось относительное количество лимфоцитов и уменьшилось нейтрофилов. Однако по сравнению с контролем у подопытных крыс количество лимфоцитов стало меньше на 32,7 %, а нейтрофилов больше на 47 %. Количество эритроцитов уменьшилось на 12,8 %, гемоглобина – на 26,6 %, тромбоцитов – на 23,2 %, гематокрит снизился на 31,8 %. У крыс из 2-й группы на 14,3 % увеличилось количество лейкоцитов, но соотношение лимфоцитов и нейтрофилов оставалось диспропорциональным. По сравнению с контролем у подопытных крыс лимфоцитов было на 24,4 % меньше, а нейтрофилов на 37 % больше. Количество эритроцитов снизилось на 22,6 %, гемоглобина – на 25,6 %, уровень гематокрита снизился на 10,4 %. У животных 3-й группы на 65,3% увеличилось количество лейкоцитов, а в их составе увеличилась доля лимфоцитов и уменьшилась нейтрофилов. Однако по сравнению с контрольной группой у подопытных крыс относительное количество лимфоцитов было мень-

шим на 20,7 %, а количество нейтрофилов на 20,1 % большим. Количество эритроцитов уменьшилось на 20,5 %, гемоглобина – на 30 %, показатель гематокрита снизился на 12 %. У крыс 4-й группы на 77,7 % увеличилось количество лейкоцитов, в их составе по сравнению с предыдущими исследованиями увеличилась доля лимфоцитов и уменьшилась нейтрофилов. Однако по сравнению с интактными крысами относительное количество лимфоцитов у подопытных крыс было на 20,7 % меньшим, а количество нейтрофилов на 20,8 % большим. Кроме того, у подопытных крыс количество моноцитов увеличилось в 2 раза, а количество эозинофилов – в 4 раза, чем у животных контрольной группы. Также у животных 4-й группы по сравнению с контрольной было меньшим количество эритроцитов на 25,6 %, гемоглобина – на 28,4 % и уровень гематокрита – на 13,6 %.

Таким образом, результаты гематологических исследований показали, что основной клеточной мишенью крови являются лейкоциты, а в их пуле лимфоциты. Количество данных клеток у подопытных животных всех групп в течение первых 6 ч уменьшилось почти в 3 раза по сравнению с интактными животными. Через 12 ч после введения токсинов уровень лейкоцитов начинал возрастать, а в его пуле увеличивалась доля лимфоцитов и сокращалась доля нейтрофилов. Однако, даже спустя 24 ч соотношение лимфоцитов и нейтрофилов оставалось диспропорциональным, несмотря на достаточно высокое содержание в крови подопытных животных лейкоцитов. Наиболее глубокие изменения происходили у животных, которым вводили смесь токсинов, что проявлялось не только лимфоцитопенией и нейтрофилией, но и моноцитозом и эозинофилией, что свидетельствует о развитии инфекционного токсико-аллергического процесса.

Как оказалось, эритроциты и тромбоциты также подвержены повреждению токсинами кишечной палочки, но изменение количества этих клеток было зарегистрировано только спустя 6 ч после введения токсинов. Развившаяся эритропения и тромбоцитопения сопровождалась падением уровня гемоглобина и гематокрита, что характерно для гемолитической анемии. Наиболее выраженные изменения со стороны красных кровяных телец были зафиксированы спустя 24 ч

после введения токсинов. Особенно они были выраженными у животных 3-й и 4-й групп, которым вводили шигаподобный токсин и смесь токсинов.

Результаты определения уровня цитокинов в сыворотке крови подопытных крыс и их временная динамика представлены в таблице 17 и на рисунках 18–21. Как видно из представленного материала, цитокиновый ответ на введение токсинсодержащих супернатантов различных штаммов и их смеси был выраженным, но различным по интенсивности и динамике проявления. Однако имело место одно общее событие – быстрота реакции. Уже через 3 ч у животных всех опытных групп регистрировали резкое увеличение концентрации ИЛ-6 и ФНО- α . В последующие часы количество ИЛ-6 продолжало увеличиваться, а затем стало постепенно снижаться, но даже через 24 ч оставалось в 22–40 раз большим, чем у интактных животных, что свидетельствует о развитии ярко выраженного воспалительного процесса. Однако, если у животных из 3-й и 4-й групп концентрация ФНО- α достигнув пикового предела через 3 ч после введения токсинов, в последующем стала снижаться, но, тем не менее, спустя 24 ч по-прежнему оставалась в 4-5 раз большей, чем у крыс группы отрицательного контроля, то у животных из 1-й и 2-й групп количество ФНО- α продолжало возрастать и спустя 6 ч после введения достигло своей пиковой точки. В дальнейшем концентрация данного цитокина стала снижаться и через 24 ч максимально приблизилась к показателю у интактных крыс.

Таблица 17 – Уровень цитокинов в сыворотке крови крыс после введения им токсинсодержащего супернатанта *E. coli*, пг/мл ($n = 10$, $M \pm m$)

Показатель	Группа					
	1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6	7
Через 3 ч						
ИЛ-2	18,1 $\pm$ 0,6	17,3 $\pm$ 0,4	12,5 $\pm$ 0,6*	15,7 $\pm$ 0,8	29,4 $\pm$ 1,4	12,7 $\pm$ 0,8
ИЛ-6	126,80 $\pm$ 3,50*	92,60 $\pm$ 2,80*	150,00 $\pm$ 3,80*	190,40 $\pm$ 4,20*	6,10 $\pm$ 0,08	3,80 $\pm$ 0,09

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4	5	6	7
ИЛ-10	16,7 ± 0,2*	15,1 ± 0,4	17,9 ± 0,6	18,6 ± 0,4	15,8 ± 0,8	13,5 ± 0,9*
ФНО альфа	91,1 ± 3,7*	88,4 ± 2,9*	193,7 ± 5,8*	242,1 ± 7,2*	19,3 ± 0,4	6,6 ± 0,2
Через 6 ч						
ИЛ-2	15,9 ± 0,8	14,1 ± 0,6	10,6 ± 0,4	12,8 ± 0,6	19,7 ± 1,2	11,8 ± 0,8
ИЛ-6	178,30 ± 2,60*	143,50 ± 2,20*	219,40 ± 5,40*	232,60 ± 3,80*	19,20 ± 1,10	1,90 ± 0,06
ИЛ-10	25,9 ± 1,4*	27,3 ± 1,6	28,8 ± 1,2	32,6 ± 1,8	17,0 ± 0,8	12,7 ± 0,4
ФНО альфа	124,7 ± 3,8*	105,6 ± 2,2*	129,1 ± 2,8*	158,4 ± 3,2*	14,8 ± 0,4	5,9 ± 0,2
Через 12 ч						
ИЛ-2	37,8 ± 1,8	32,2 ± 2,4	47,6 ± 2,8	49,7 ± 2,6	14,1 ± 0,8	12,0 ± 0,6
ИЛ-6	119,60 ± 3,20	108,40 ± 2,60	140,90 ± 3,80	165,10 ± 4,20	9,20 ± 0,80	2,60 ± 0,08
ИЛ-10	53,7 ± 2,6	40,3 ± 2,4	62,7 ± 3,2	69,9 ± 2,8	16,9 ± 0,4	13,8 ± 0,2
ФНО альфа	63,40 ± 1,80	59,60 ± 1,60	77,50 ± 2,40	83,40 ± 3,20	9,30 ± 0,10	6,90 ± 0,08
Через 24 ч						
ИЛ-2	67,1 ± 2,2*	59,3 ± 2,4*	91,7 ± 3,2*	109,5 ± 4,8*	12,9 ± 0,6*	12,1 ± 0,4
ИЛ-6	68,80 ± 1,80*	64,70 ± 1,40*	72,40 ± 2,20*	89,80 ± 2,60*	3,90 ± 0,04	2,90 ± 0,03
ИЛ-10	88,9±2,4*	86,8±2,2*	155,8±3,8*	181,3±4,6*	15,6±0,4	11,1±0,08
ФНО альфа	12,0±0,8	12,3±0,6	28,9±1,2*	32,4±2,2*	7,5±0,08	6,1±0,06
Примечание: * – P ≤ 0,05.						

В меньшей степени на введение токсинов в течение первых часов была реакция со стороны ИЛ-2 и ИЛ-10. Спустя 3 ч концентрация этих цитокинов у крыс опытных групп достоверно не отличалась от крыс группы отрицательного контроля. В последующие 3 ч уровень ИЛ-2 у крыс опытных групп даже несколько снизился, но затем начал резко увеличиваться и к 24 ч превысил таковой в контрольной группе в 5–9 раз. Данная динамика может быть связана с активностью продуцентов этого цитокина – Т-лимфоцитов.

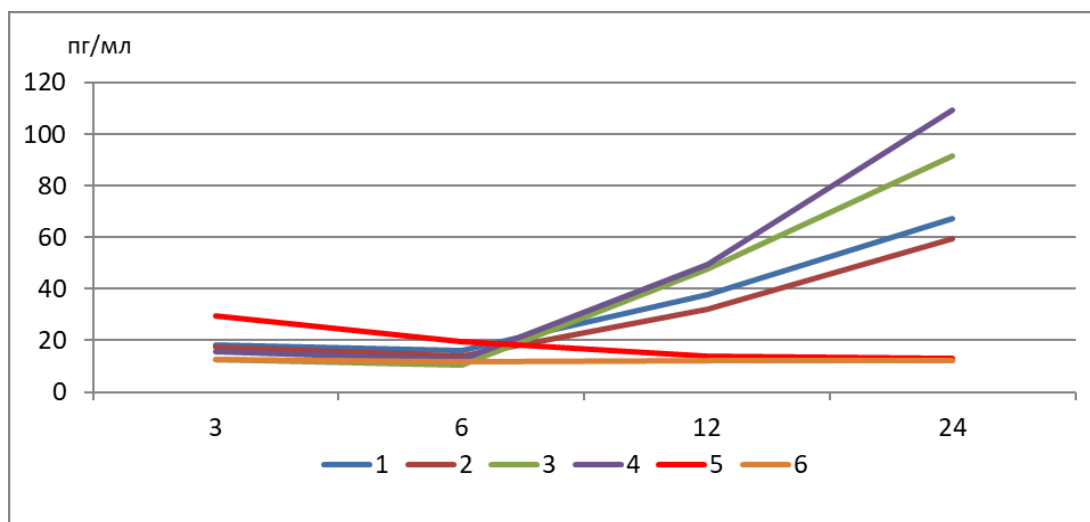


Рисунок 18 – Динамика изменения уровня ИЛ-2 в крови крыс после введения токсинсодержащего супернатанта

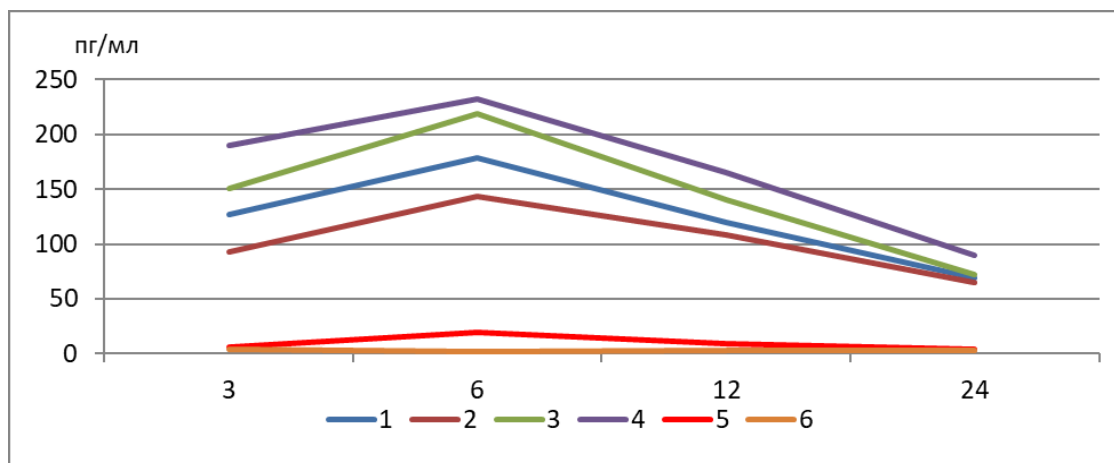


Рисунок 19 – Динамика изменения уровня ИЛ-6 в крови крыс после введения токсинсодержащего супернатанта

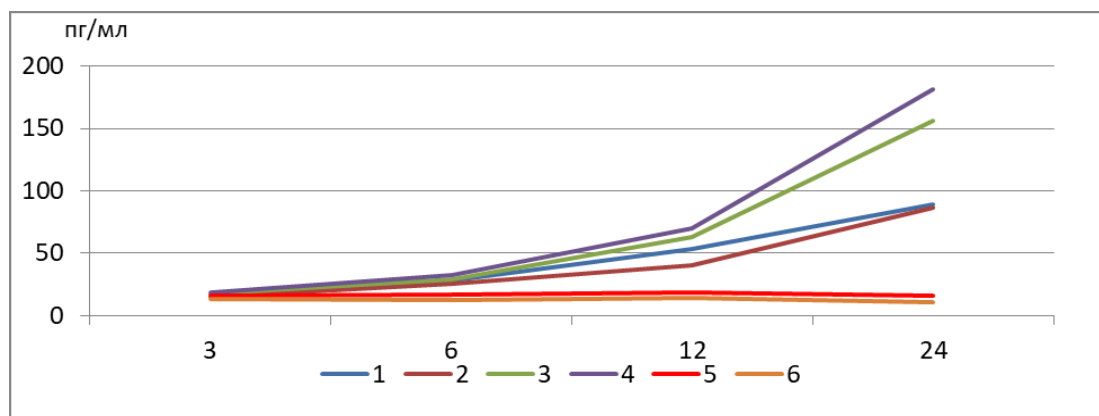


Рисунок 20 – Динамика изменения уровня ИЛ-10 в крови крыс после введения токсинсодержащего супернатанта

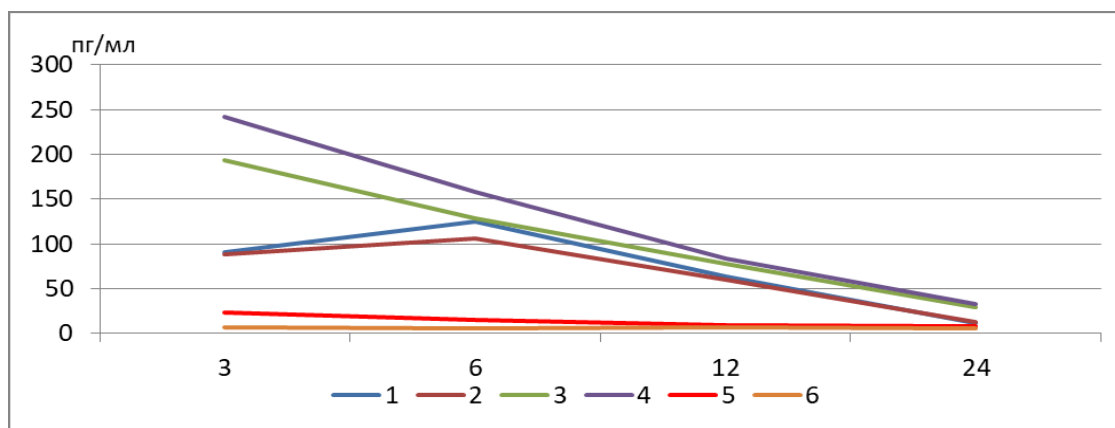


Рисунок 21 – Динамика изменения уровня ФНО-α в крови крыс после введения токсинсодержащего супернатанта

Таким образом, сравнивая характер цитокинового ответа на введение различных токсинсодержащих материалов видно, что в меньшей степени он выражен у животных 1-й и 2-й групп, которым инъецировали культуральную среду, содержащую в основном цитотонические токсины (ST, LT) и гемолизины. В большей степени по величине и продолжительности цитокинового выброса характеризовался иммунный ответ у животных 3-й группы, которым ввели культуральную среду шигатоксинпродуцирующей *E.coli*. Но особенно мощным выброс провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ФНО-α) произошел у крыс 4-й группы, которым ввели смесь культуральных сред трех токсигенных штаммов *E. coli*. Данное обстоятельство является доказательством того, что продуцируемые кишечной палочкой экзотоксины в своей совокупности могут усиливать своё патогенное действие на макроорганизм и это действие проявляется не только нарушением функции кишечного тракта, но и поражением других органов, вызывая в них воспалительные и дегенеративные изменения [25].

3.4 Клинические и патоморфологические изменения у животных после введения им смеси токсинов *E. coli*

Как показали ранее проведенные исследования, в ответ на введение белым крысам токсинсодержащих бульонных безмикробных культур *E. coli* мы наблюда-

ли ярко выраженный ответ со стороны картины крови и цитокинового профиля, что свидетельствовало об острой токсико-аллергической реакции, сопровождающейся выраженным воспалительным процессом. Наибольшие изменения как со стороны гематологического, так и цитокинового статуса происходили после введения животным смеси токсинов, что свидетельствует о потенцированном патогенетическом эффекте различных токсинов эшерихий на организм [25]. Исходя из этого, синергизм экзотоксинов должен также проявиться и на клиническом состоянии животных. На сколько выраженным и продолжительным был патогенный эффект смеси токсинов и каковы его последствия для организма позволил понять опыт с экспериментальной токсико-инфекцией [200; 345]. Проведение данного опыта обосновывалось ещё и тем обстоятельством, что гипотетически такая инфекция могла развиваться у телят и поросят, поскольку, как показал генетический мониторинг, у одного и того же животного выделялись одновременно изоляты эшерихий, имевшие различные маркеры токсинов и даже такие изоляты, которые сами имели сразу несколько таких маркеров [30].

После ректального введения кроликам смеси токсинов было установлено, что спустя 2–2,5 ч у трех из пяти подопытных животных появились первые клинические признаки заболевания, которые характеризовались угнетением, отказом от корма, вздутием живота и повышением температуры тела до 41,1–41,5 °С. Спустя 4–5 ч после введения токсина у этих животных появилась водянистая диарея, при этом фекалии имели тёмный, почти черный цвет и содержали примесь крови и слизи, причем профузный понос продолжался до самой гибели (рисунок 22). У двух кроликов мы не отметили выше обозначенных признаков, однако через 6 ч зафиксировали их гибель. На вторые сутки у оставшихся животных стали проявляться неврологические нарушения в виде атаксии и паралича (рисунок 23), а кроме того, резко обозначилось обезвоживание и появились кашель или чихание. На 2–3 сут пали все остальные животные опытной группы. У кроликов контрольной группы случаев падежа и клинических симптомов не было.

При патологоанатомическом исследовании у павших кроликов обнаружены следующие изменения (рисунок 24): слизистая оболочка желудка в фун-

дальной части была набухшая и покрыта обилием слизи (рисунок 25), тонкий и толстый отделы кишечника на всем их протяжении были вздуты, воспалены, отёчны, наполнены водянистым химусом (рисунок 26). Слизистая оболочка толстого отдела кишечника местами была набухшая, покрыта слизью и усеяна множеством петехиальных кровоизлияний, а серозный и мышечный слои пропитаны студневидным экссудатом.



Рисунок 22 – Диарейный и паралитический синдром
после введения смеси токсинов



Рисунок 23 – Угнетение и невралгический синдром
после введения смеси токсинов



Рисунок 24 – Общая патогогоанатомическая картина экспериментального эшерихиозного токсикоза

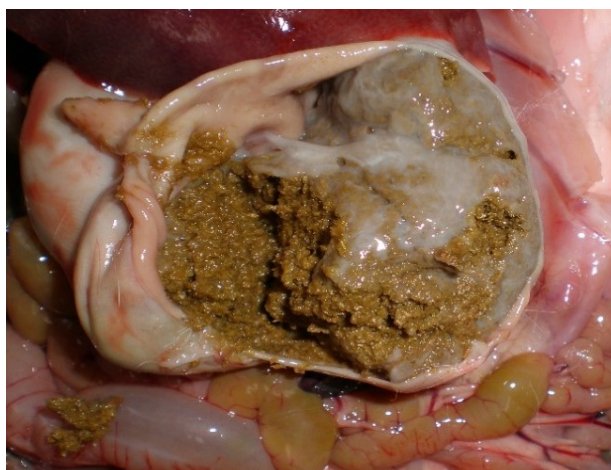


Рисунок 25 – Катаральное воспаление в желудке у подопытного кролика



Рисунок 26 – Отёк и воспаление в кишечнике у подопытного кролика

Лимфатические узлы брыжейки местами были увеличены в размере, имели плотную консистенцию и серо-желтый цвет. С поверхности разреза обильно стекала серо-желтого цвета мутная жидкость, структура их на разрезе была плохо выражена. Печень была увеличена в размере, плотной консистенции, имела тупые края и окрашена в темно-вишневый цвет, у некоторых трупов печень была дряблой с неравномерной окраской, что свидетельствовало о наличии токсической дистрофии (рисунок 27).

Селезенка незначительно увеличена в размере с закругленными краями, темно-вишневого цвета, плотной консистенции (рисунок 28). Почки также были незначительно увеличены в размере, плотной консистенции, темно-вишневого цвета с поверхности и на разрезе, рисунок между корковым и мозговым слоями сглажен (рисунок 29). В легких наблюдали обширный отек с участками ателектаза (рисунок 30). Сердце увеличено в размере, дряблой консистенции.

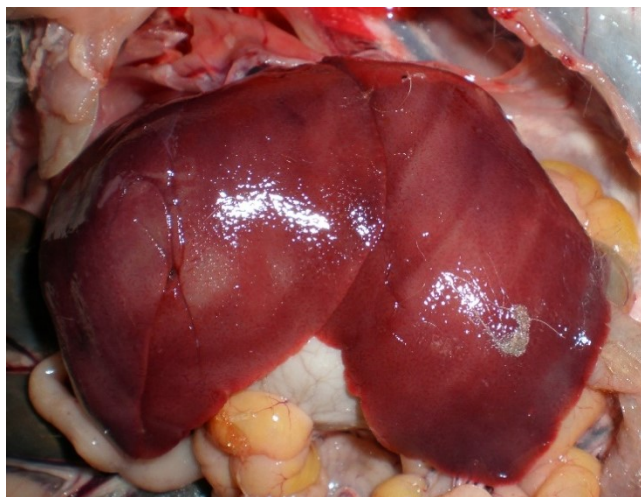


Рисунок 27 – Токсическая (белковая) дистрофия печень у павшего кролика опытной группы



Рисунок 28 – Венозная гиперемия селезенки у павшего кролика опытной группы

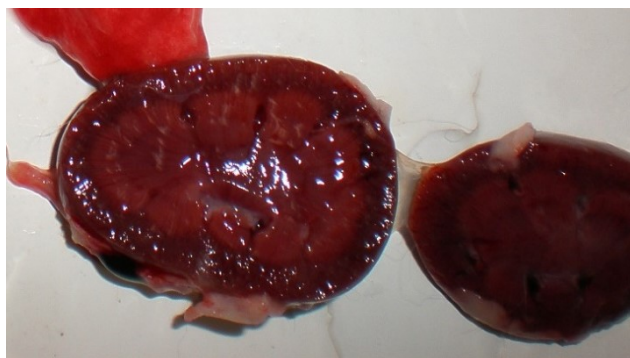


Рисунок 29 – Нефрит у подопытного кролика

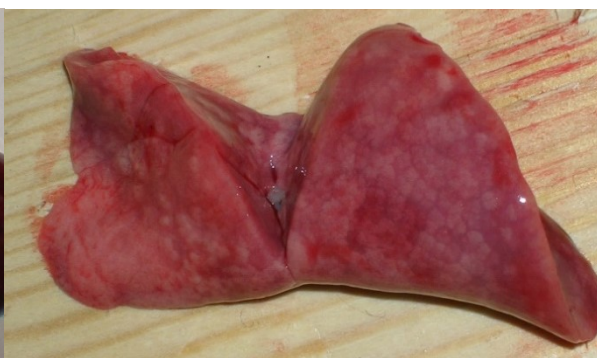


Рисунок 30 – Выраженный отек легких у подопытного кролика

При проведении гистологических исследований тканей печени установили изменения, характерные для токсической дистрофии, что выражалось наруше-

нием балочного строения, жировым перерождением гепатоцитов (рисунок 31) с развитием разной величины очагов коагуляционного некроза, расширением и переполнением кровью вен и капилляров, кровоизлияниями. Имелись участки в гепатоцитах с наличием гемосидерина, что указывало на зернистую дистрофию. В отдельных образцах отмечали венозную гиперемию печени с характерным переполнением и расширением синусоидных капилляров (рисунок 32).

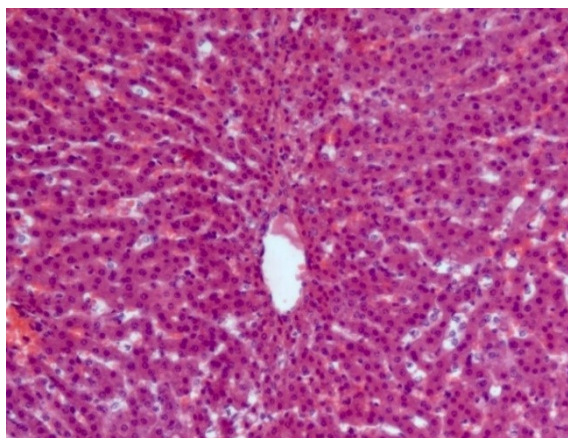


Рисунок 31 – Некротические и дистрофические изменения в печени у подопытного кролика, $\times 10$

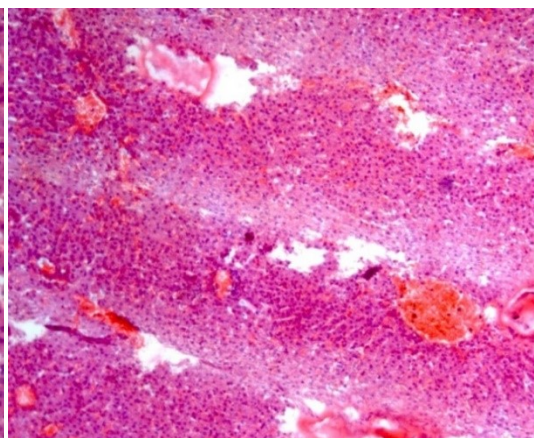


Рисунок 32 – Венозная гиперемия и кровоизлияния в печени у подопытного кролика, $\times 10$

В лёгких отмечали кровенаполненность межалвеолярных капилляров, бронхиальных сосудов и интерстициального и межалвеолярного пространства (рисунок 33), а также ателектаз отдельных альвеол с утолщением межалвеолярных перегородок и сужением просвета. Однако воспалительной реакции в органе не наблюдали.

В сердечной мышце у двух кроликов опытной группы отмечали некротические изменения с выявлением небольших участков воспаления с пикнозом ядер и лизисом кардиомиоцитов. Отмечали кровоизлияния в отдельных периваскулярных пространствах со скоплением экстравазата.

В ткани селезенки, желудка и поджелудочной железы в большинстве случаев микроструктурных изменений не выявлено. Однако в некоторых образцах

селезенки отмечали венозную гиперемию и диффузное катаральное воспаление с гиперсекрецией слизи в клетках желудка.

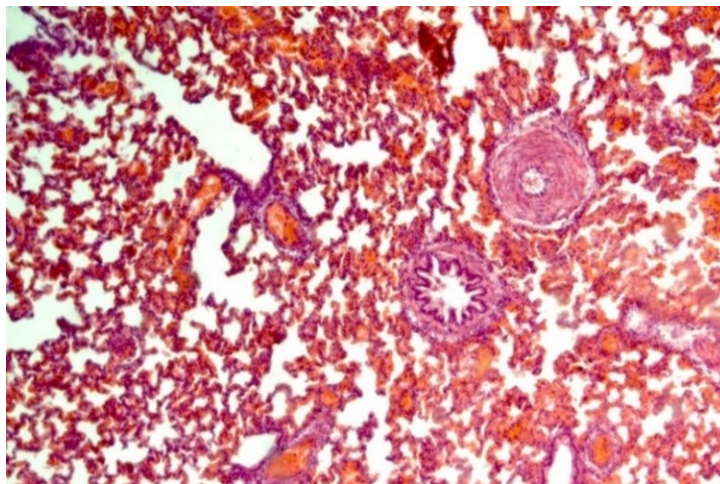


Рисунок 33 – Кровенаполненность межалвеолярных капилляров, бронхиальных сосудов и интерстициального пространства, $\times 10$

Патогистологические изменения в тканях почек заключались в нарушении нормальной архитектоники органа. Поражение было характерно для гломерулопатии и первичного негнойного гломерулонефрита с очагами некроза (рисунок 34). В эпителии отдельных канальцев отмечали зернистую и гидропическую дистрофию и некроз (рисунок 35). При этом в эпителии канальцев происходил лизис ядер, а просвет их был заполнен однородной базофильной массой.

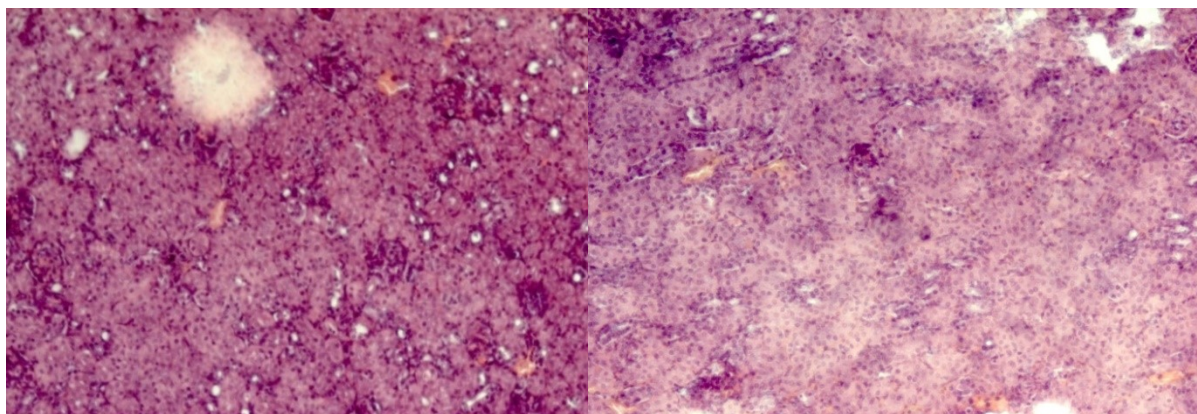


Рисунок 34 – Очаг некроза почечных канальцах, $\times 10$

Рисунок 35 – Гидропическая дистрофия эпителия канальцев почки, $\times 400$

В тонком и толстом отделах кишечника отмечали острое, диффузное катарально-геморрагическое воспаление, которое характеризовалось выраженной слизистой дистрофией и некрозом эпителия кишечных ворсинок (рисунок 36), а также выпотом геморрагического экссудата в ее подслизистый слой.

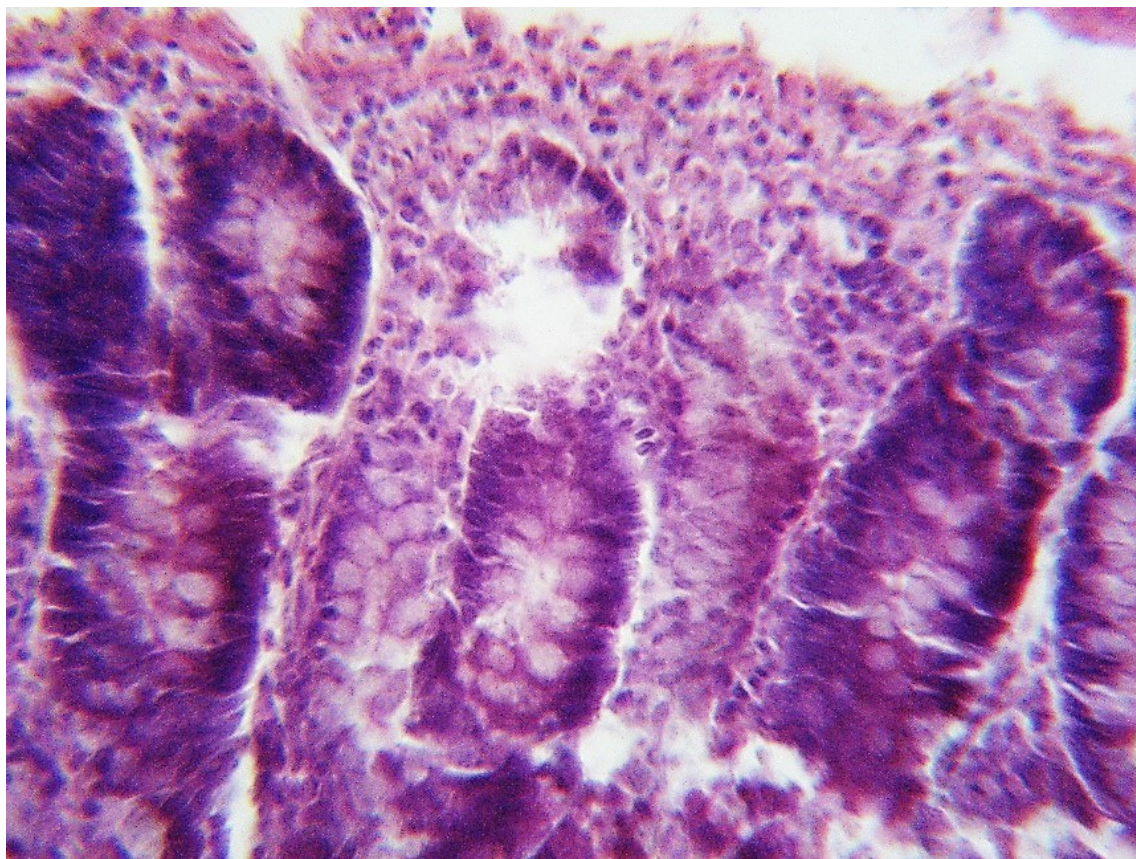


Рисунок 36 – Слизистая дистрофия эпителия кишечных ворсинок
тонкого отдела кишечника, $\times 400$

В желудке выявили острое диффузное катаральное воспаление, которое проявлялось гиперсекрецией слизи. В отдельных образцах слизистой оболочки пилорической части желудка наблюдали альтеративные процессы, которые характеризовались некрозом собственно слизистого и подслизистого слоев.

В некоторых срезах тканей мезентериальных желудочных и портальных лимфатических узлов выявляли увеличение размера первичных фолликулов за счет увеличения количества лимфатических клеток, а также увеличение числа вторичных фолликулов с реактивными центрами. Кровеносные сосуды трабекул были наполнены кровью.

При гистологическом исследовании ткани спинного мозга микроструктурных изменений обнаружено не было, в отличие от головного мозга, где в большинстве образцов обнаруживали сохранение структуры ткани органа, но при этом имелись небольшие очаги вакуолизации в виде начальной стадии энцефалопатии (рисунок 37) и очаги некроза (рисунок 38).

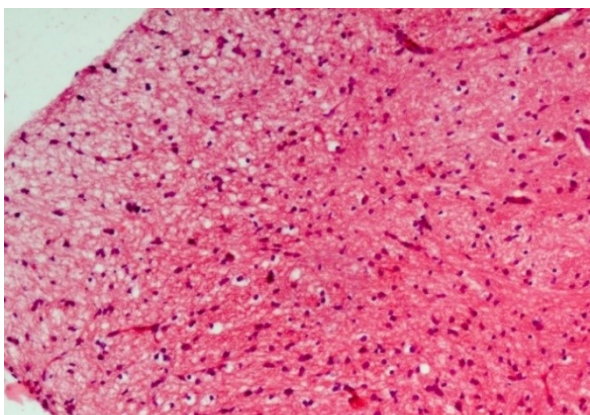


Рисунок 37 – Очаги вакуолизации
в ткани головного мозга и начальная
стадия энцефалопатии, $\times 5$

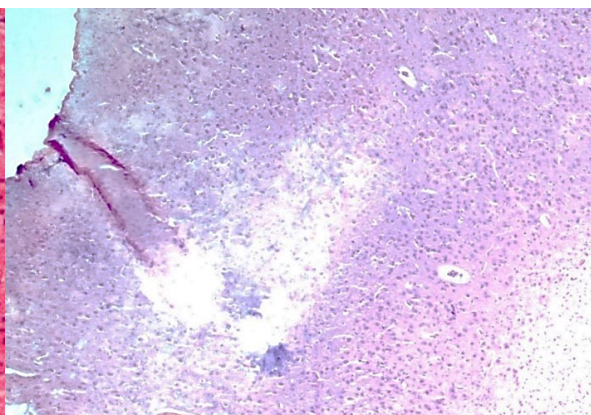


Рисунок 38 – Очаги некроза
в головном мозге, $\times 5$

Таким образом, проведённый опыт по моделированию смешанной токсико-инфекции эшерихиозного происхождения позволил нам установить особенности её клинического и патоморфологического проявления. К особенностям клинического проявления следует отнести сочетание диарейного и невралгического синдрома. Причем развитие профузного поноса было аналогичным тому, который развивается у поросят в постотёчный период, а невралгический синдром напоминал аналогичный при отёчной болезни и при энтеропатогенном эшерихиозе у телят. Однако патоморфологические изменения были гораздо более разнообразными и свидетельствовали о развитии различных патологических процессов, таких как дистрофия, атрофия, некроз, гиперемия, стаз, воспаление. При этом основными мишенями были не только эпителиальные клетки всего желудочно-кишечного тракта, но и почечный и альвеолярный эпителий, гепатоциты, мышечная ткань сердца и ткань головного мозга, т. е. развивается полиорганная патология. Данная клиническая и патологоанатомическая картина свидетельствует о зна-

чительно более тяжелом патологическом процессе, чем при эшерихиозе, обусловленном отдельными патотипами (токсинами) *E. coli* [200; 345]. В связи с этим лечение животных с такой клиникой (токсико-инфекционный шок) будет требовать и отдельного подхода и не ограничиваться только регидратационной и антибиотикотерапией. Безусловно, в схему комплексного лечения необходимо вводить средства интенсивной и антитоксической терапии. Как видно, сложность патогенеза токсико-инфекционного шока развивающегося при смешанном эшерихиозном токсикозе определяет многокомпонентный подход к его интенсивной терапии, так как лечение недостаточности только одного органа нецелесообразно.

3.5 Получение и биологические свойства колианатоксина

3.5.1 Характеристика штаммов *E. coli*, отобранных в качестве кандидатов для получения колианатоксина

Исследования различных авторов указывают, что факторы патогенности кишечной палочки кодируются плазмидами, а не хромосомами. Это позволяет *E. coli* легко передавать или утрачивать гены, обеспечивающие ей патогенные свойства. Однако для вакцинных штаммов критически важно стабильно сохранять имеющиеся детерминанты, связанные с болезнетворностью [15; 38; 157; 181; 359; 444].

В ходе многолетних ДНК-исследований совместно с сотрудниками кафедры микробиологии, эпизоотологии и вирусологии ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ – профессором В. И. Тереховым и ассистентом Я. М. Караевым – были отобраны штаммы *E. coli*, которые устойчиво сохраняли гены термолабильного, термостабильного, шигаподобного токсинов и гемолизина [30]. Эти штаммы также сохраняли способность к их продуцированию, что было неоднократно подтверждено тестированием на инфузориях-стилонихиях, а также в плантар-

ном и анальном тестах на белых мышах. Характеристика штаммов-кандидатов приведена в таблице 18 и 19.

Таблица 18 – Биологическая, антигенная и генетическая характеристика штаммов-кандидатов *E. coli*

Характеристика	Штамм кишечной палочки			
	KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933
По О-антигену	O141	O41	O26	O157
По типу адгезина	K99	K99	F41	K88
По генам экзотоксинов	LT, ST-II и HLY E	RTX α -гемолизин, LT, ST-II и HLY A, Д, E	STX 2e, RTX α -гемолизин, SUB AB5, колицин V и HLY E	STX 2e, RTX α -гемолизин, SUB AB5, и HLY A, Д, C, E
По гемолитической активности	β -гемолиз	α -гемолиз	β -гемолиз	α -гемолиз

Таблица 19 – Биохимические свойства штаммов-кандидатов *E. coli*

Показатель	Штамм кишечной палочки			
	KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933
1	2	3	4	5
IND	+	+	+	+
H ₂ S	–	–	–	–
LYS	+	+	+	+
ORN	–	+	–	–
URE	–	-	–	–
ARB	+	+	+	+
SCI	–	–	–	–
MAL	–	–	+	+
PHE	–	–	–	–

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4	5
ONP	+	+	+	+
INO	–	–	–	–
ADO	–	–	–	–
CEL	–	–	–	–
SUC	+	+	–	–
TRE	+	+	–	–
MAN	+	+	+	+
VPT	–	–	–	–
ESL	–	–	–	–
SOR	+	+	+	+
LAC	–	–	+	+
RAF	+	+	–	–
DUL	–	–	–	–
GLU	+	+	+	+

Штамм KubGAU B-533 был выделен 21 апреля 2002 г. из брыжеечного лимфатического узла поросенка с отечной болезнью, принадлежащего СПК «Новый путь» (Брюховецкий район Краснодарского края). Данный штамм имеет антигенную формулу O141:K99; является продуцентом термолабильного токсина, термостабильного токсина (ST-II) и гемолизина E. По морфологическим и тинкториальным свойствам это грамотрицательная, палочковидной формы бактерия, размером 0,5–1,0×1,5–3 мкм, подвижная, не образует спор. На ГМФ-агаре формирует плоско-выпуклые с ровными краями, гладкие, блестящие, влажные, прозрачные с медовым или зеленоватым отливом в косопроходящем свете, диаметром 2–4 мм колонии. На кровяном агаре с эритроцитами барана образует β-гемолиз. Продуцирует индол, кислоту при сбраживании глюкозы, сахарозы, маннита, арабинозы, тригалозы, сорбита и раффинозы. Обладает лизиндекарбоксилазной активностью.

Штамм *E. coli* KubGAU B-546 был выделен 31 апреля 2002 г. из трубчатой кости 10-дневного поросенка, принадлежащего ЗАО «им. Максима Горького» (Кавказский район Краснодарского края). Данный штамм имеет антигенную формулу O41:K99; является продуцентом токсина RTX α -гемолизина, термолabile токсина LT, термостабильного токсина (ST-II) и гемолизинов А, Д, Е. По морфологическим и тинкториальным свойствам это грамотрицательная, палочковидной формы бактерия, размером 0,5–1,0×1,5–3 мкм, подвижная, не образует спор. На ГМФ-агаре формирует плоско-выпуклые с ровными краями, гладкие, блестящие, влажные, прозрачные, с медовым или зеленоватым отливом, диаметром 2–4 мм колонии. На кровяном агаре с эритроцитами барана образует α -гемолиз. Продуцирует индол, кислоту при сбраживании глюкозы, тригалозы, сахарозы, маннита, арабинозы, сорбита и раффинозы. Обладает лизиндекарбоксилазной и орнитиндекарбоксилазной активностью.

Штамм KubGAU B-923 выделен 29 сентября 2003 г. из селезенки поросенка-отъёмыша павшего с признаками энтерита, принадлежащего учебно-опытному хозяйству «Краснодарское» ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ (г. Краснодар). Имеет антигенную структуру O26:F41; является продуцентом шигаподобного токсина STX 2e, токсина RTX α -гемолизина, субтилазного токсина AB5, колицина V и гемолизина E. По морфологическим и тинкториальным свойствам – грамотрицательная, палочковидная бактерия, размером 0,5–1,0×1,5–3 мкм, подвижная, не образует спор. На мясопептонном агаре образуют плоско-выпуклые с ровными краями, гладкие, блестящие, влажные, прозрачные с медовым или зеленоватым отливом в косопроходящем свете, диаметром 2–4 мм колонии. На кровяном агаре с эритроцитами барана дает β -гемолиз. Продуцирует индол, кислоту при сбраживании глюкозы, лактозы, мальтозы, маннита, арабинозы и сорбита. Обладает β -галактозидазной и лизиндекарбоксилазной активностью.

Штамм KubGAU B-933 выделен 10 декабря 2003 г. из брыжеечного лимфоузла и кишечника 10-дневного теленка, принадлежащего ОАО «Память Ильича» (Крымский район Краснодарского края). Имеет антигенную структуру O157:K88; является продуцентом шигаподобного токсина STX 2e, токсина RTX α -гемолизина,

субтильного токсина АВ5, и гемолизинов А, Д, С, Е. По своим морфологическим и тинкториальным свойствам – это палочковидная, грамотрицательная бактерия размером 0,5–1,0×1,5–3 мкм, подвижная, не образует спор. На ГМФ-агаре формирует колонии плоско-выпуклые с ровными краями, гладкие, блестящие, влажные, в косопрходящем свете прозрачные с медовым или зеленоватым отливом, диаметром 2–4 мм. На кровяном агаре с эритроцитами барана образует α-гемолиз. Продуцирует индол, кислоту при сбраживании глюкозы, лактозы, мальтозы, маннита, арабинозы и сорбита. Обладает β-галактозидазной и лизиндекарбоксилазной активностью.

Все штаммы на питательных средах росли в устойчивой S-форме. На среде Эндо формировали колонии малинового цвета с бронзовым отливом; в мясопептонном бульоне видимое помутнение среды появлялось через 4–5 ч при температуре 37–38 °С, а через 14–16 ч муть становилась обильной, на дне пробирки формировался легко разбивающийся рыхлый осадок, на поверхности бульона – пристеночное кольцо или пленка.

3.5.2 Получение колианатоксина

Одним из наиболее распространенных методов получения вакцин против эшерихиоза животных является использование мясопептонного бульона или бульона Хоттингера для культивирования эшерихий и накопления оптимальной бактериальной массы. На данных средах токсигенные штаммы *E. coli* продуцируют LT и ST, а также такие факторы адгезии как K88, K99, F41 и 987P [130]. Тем не менее, исследования показывают, что для продуцирования более сложных токсинов, таких как шигаподобные токсины, некротизирующий токсин, гемолизины и сидерофоры, необходимо, чтобы в питательных средах присутствовали дополнительные факторы роста, к примеру, микроэлементы (особенно железо), витамины, низкомолекулярные пептиды и аминокислоты [61].

Исходя из этого в ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ профессором В. И. Тереховым с соавторами [107] был разработан специальный питательный бульон для

культивирования токсигенных *E. coli* с целью получения LT, ST и STX 1, 2. В качестве ключевых компонентов использовался кислотный гидролизат крови убойных животных и аутолизат пекарских дрожжей. Полный состав данной питательной среды включает в себя (мас.%):

кислотный гидролизат крови	9–11
аутолизат пекарских дрожжей	9–11
пептон ферментативный	0,9–1,1
натрия хлорид	0,4–0,6
двузамещенный фосфорнокислый натрий	0,05–0,15
калия хлорид	0,01–0,03
дистиллированная вода	до 100.

Первый этап разработки колианатоксина и изучение его антигенных свойств был выполнен совместно с ассистентом кафедры микробиологии, эпизоотологии и вирусологии ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ Я. М. Караевым [110].

Для получения колианатоксина штаммы *E. coli* KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, KubGAU B-933 засеивали в пробирки с авторской питательной средой. Затем маточные культуры готовили путем инокуляции штаммов в колбу Эрленмейера объемом 250 мл, содержащую 100 мл питательной среды. Колбы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24 ч. Периодическое культивирование и инактивацию штаммов эшерихий проводили в биореакторе с мешалкой объемом 100 л, который был оснащен системой термостатирования, шестилопастной турбиной Раштона и системами контроля температуры и pH. Штаммы, продуцирующие термолабильный и термостабильный токсины, культивировали 6 сут, а продуцирующие шигаподобный токсин – 7 сут. Перед окончанием инкубирования отобрали по 10 мл культуральной жидкости, центрифугировали ее при 10 тыс. об./мин в течение 30 мин и серологическими методами определяли наличие токсинов [110].

Для этой работы использовали РДП с анти LT- и анти ST-сыворотками, предоставленные НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Гамалея

(Москва), для выявления STX был использован набор для определения токсина в реакции коаггутинации (Московская медицинская академия имени Сеченова).

Результаты исследований, представленные в таблице 20, показывают, что при культивировании штаммов-продуцентов в соответствующих питательных средах действительно происходит накопление токсинов. Это свидетельствует о том, что наработанные бульонные культуры можно использовать для получения анатоксина.

Таблица 20 – Титры накопления экзотоксинов *E. coli*, $\log_2$

Серологическая реакция	Штамм			
	KubGAU B-533	KubGAU B-546	KubGAU B-923	KubGAU B-933
РДП	$4,6 \pm 0,6$	$4,2 \pm 0,4$	–	–
РКоА	–	–	$9,8 \pm 0,8$	$9,6 \pm 0,9$

После подтверждения наличия токсинов в культуры добавили формалин до концентрации 0,3–0,4 %. Инактивацию проводили в течение 14 сут при температуре 37 °С, ежедневно культуры дважды взбалтывали. После завершения инактивации равные объемы культур объединили, получив, таким образом, комплексный препарат, содержащий три вида токсинов. С помощью стерилизующей фильтрации отделили микробную массу от среды культивирования. Готовый препарат в асептических условиях расфасовывали в стерильные флаконы и укупоривали. Полученный эшерихиозный анатоксин проверяли на стерильность, безвредность, иммуногенность и протективную активность.

При контрольных высевах анатоксина на МПА, МПБ, среду Китт-Тароцци, Сабуро, Эндо рост бактериальной и грибной флоры отсутствовал, что свидетельствовало о стерильности препарата.

При внутрибрюшинном введении анатоксина в дозе 0,3 мл белым мышам массой 20–22 г, угнетения и гибели их в течение 10 дней не отмечали, что является показателем безвредности препарата [110].

На 3 сут количество специфических антител у крыс всех групп увеличилось практически в 2 раза.

На 5 сут титры специфических антител во всех группах достигли своего максимума, причем наибольшее значение было установлено в отношении шигатоксина. К термолабильному и термостабильному токсинам уровень антител был на 47–92 % ниже, чем к шигатоксину.

На 7 сут после введения крысам анатоксинов отметили незначительное снижение титров антител во всех группах, что свидетельствует о прекращении иммуностимулирующего действия эшерихиозных анатоксинов.

Таким образом, результаты опыта показали, что на введение как моно-, так и полианатоксина иммунная система животных реагирует образованием антител почти незамедлительно, что характерно для ответа на введение Т-независимых антигенов. Вместе с тем, несмотря на то, что специфические антитоксические антитела появились очень быстро и уровень их накопления также быстро нарастал, уже спустя 7 дней было зафиксировано их снижение, а, следовательно, это говорило о прекращении антигенного раздражения иммунокомпетентных клеток. В ответ на введение полианатоксина уровень специфических антител был в 1,2–1,8 раза более высоким, чем на введение моноанатоксинов, что можно объяснить потенцирующим действием ST, LT и STX между собой и лучшим распознаванием этого комплекса клетками иммунной системы [198].

Испытание протективных свойств эшерихиозного анатоксина проводили на белых мышах массой 20–22 г. Первоначально необходимо было установить величину заражающей дозы смеси токсинов *E. coli*, обуславливающей гибель 50 % животных (LD_{50}).

Для определения среднелетальной дозы смеси токсинов *E. coli* использовали белых мышей массой 20–22 г. После внутрибрюшинного введения токсинов за мышами вели наблюдение в течение 10 дней, ежедневно регистрируя состояние животных (таблица 22).

Результаты наблюдений показали [194; 195], что первые клинические признаки заболевания начали проявляться через 1,5–2 ч после введения смеси ток-

синов и характеризовались отсутствием аппетита и угнетением. Животные в большей степени прятались по углам клетки и зарывались в подстилку.

Таблица 22 – Гибель белых мышей после введения смеси
эшерихиозных токсинов

Группа	Доза заражения, мл	Количество животных в группе	Количество павших животных по дням наблюдения									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0,9	6	3	2	1	–	–	–	–	–	–	–
2	0,6	6	4	2	–	–	–	–	–	–	–	–
3	0,3	6	–	4	1	1	–	–	–	–	–	–
4	0,1	6	–	1	1	1	2	1	–	–	–	–
5	0,05	6	–	1	1	–	1	1	–	–	–	–
6	0,025	6	–	–	1	–	–	1	–	–	–	–
7	0,0125	6	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–

Спустя 4 ч после введения токсинов у животных из 1–3-й опытных групп появились ректальные выделения катарального характера с примесью крови, а через 19 ч у них наблюдали развитие поноса, при этом каловые массы были пенистыми, жидкими, темно-коричневого цвета.

У мышей из 4-й и 5-й опытных групп отмечали угнетение, взъерошенность шерстного покрова, конъюнктивит, снижение и полное отсутствие аппетита, жажду и появление диареи у отдельных животных. Шерстный покров вокруг анального отверстия и в области задних лап был испачкан жидкими испражнениями темного цвета.

У животных из 6-й и 7-й групп характерные клинические признаки были несколько слабее, чем у мышей из 1–5-й групп. Спустя 24–36 ч у большинства животных начали появляться признаки, характеризующие поражение центральной нервной системы: повышенная возбудимость, парез задних конечностей, судороги, на фоне которых наступала гибель.

Результаты заражения мышей токсинами *E. coli* отраженные в таблице 22 показали, что в 1–4-й группах погибли все животные в течение 6 дней, в 5-й

и 6-й группах – четыре и два животных соответственно в течение этого же времени, в 7-й группе – одно животное на 7-е сутки после заражения. Таким образом, объем токсинов обуславливающий минимальную гибель мышей составил 0,0125 мл. При введении мышам токсинов в объеме 0,1 мл погибли все мыши.

При патологоанатомическом вскрытии трупов мышей изменения выявляли главным образом в желудочно-кишечном тракте. При этом желудок, петли тонкого и толстого отделов кишечника на всем протяжении не содержали кормовых и каловых масс, были вздуты. Слизистая оболочка толстого отдела кишечника была местами набухшая, покрыта слизью и усеяна множеством петехиальных кровоизлияний, а серозный и мышечный слои пропитаны студневидным экссудатом, что создавало вид стекловидности кишки.

Исходя из наблюдаемой клинической и патологоанатомической картины можно констатировать, что они соответствуют проявлению эшерихиоза, обусловленного токсигенными штаммами кишечной палочки.

На основании полученных данных, по методу Кербера была рассчитана среднелетальная доза смеси токсинов *E. coli* (таблица 23). В результате проведенных расчетов было установлено, что летальный объем (доза) токсинсодержащего субстрата, приводящий к гибели 50 % животных, составил 0,043 мл.

Таблица 23 – Данные для определения величины среднелетальной дозы смеси токсинов *E. coli*

Показатель	Группа						
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я	7-я
Доза заражения, мл	0,9	0,6	0,3	0,1	0,05	0,025	0,0125
Выжило	0	0	0	0	2	4	5
Погибло	6	6	6	6	4	2	1
Z	–	–	–	–	5	3	1,5
d	–	–	–	–	0,05	0,025	0,0125
$Z \times d$	–	–	–	–	0,25	0,075	0,019

На следующем этапе животным анатоксин ввели подкожно двукратно с интервалом в 7 дней в дозе 0,1 + 0,1 мл. Заражение подопытных мышей провели спустя 7 дней после последнего введения анатоксина. Для заражения использовали фильтрат бульонных культур токсигенных *E. coli*, продуцирующих термолабильный, термостабильный и шигаподобный токсины в дозе 2 LD₅₀. В качестве контроля использовали интактных (невакцинированных) мышей и мышей, дважды иммунизированных вакциной Коли-Вак. Результаты этого опыта отражены в таблице 24, из данных которой видно, что после иммунизации животных колианатоксином у них в 70 % случаев формируется специфическая невосприимчивость к патогенному действию токсинов кишечной палочки, в то время как после иммунизации мышей вакциной Коли-Вак выжило только 60 % животных, а все не иммунизированные животные погибли.

Таблица 24 – Протективный эффект колианатоксина при экспериментальном заражении белых мышей токсинами *E. coli*

Группа	Иммунизирующая доза, мл	Количество животных	Заражающая доза, мл	Результаты	
				пало	протективный эффект, %
1. Опытная, иммунизировалась колианатоксином	0,1+0,1	10	0,086	3	70
2. Контрольная, иммунизировалась Коли-Вак	0,1+0,1	10		4	60
3. Контрольная (интактные)	—	10		10	0

Следовательно, колианатоксин обладает выраженным защитным действием в отношении экспериментальной эшерихиозной токсикоинфекции и может использоваться как специфический биопрепарат для ее профилактики [194; 195]. Таким образом, нами был получен стерильный, безвредный, имму-

ногенный препарат, который обладает защитным действием и может быть использован в качестве перспективного профилактического средства. Однако решение о дальнейшем использовании колианатоксина может быть только после изучения результатов его влияния на организм иммунизируемых животных, для чего нами были проведены соответствующие опыты.

3.5.3 Влияние колианатоксина на гематологические показатели, фагоцитарную и микробицидную активность нейтрофильных гранулоцитов

Изменения в составе крови являются индикатором состояния организма и могут предшествовать появлению клинических признаков заболеваний. Это делает гематологические исследования важным инструментом для ранней диагностики, оценки течения и прогноза заболеваний. Таким образом, мониторинг состояния крови у животных необходим для понимания их здоровья и своевременного принятия мер на ранних стадиях патологий [82; 90; 95; 239].

Изучение влияния колианатоксина на гематологический статус и функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов проводили на молодых белых крысах линии Вистар, для чего было сформировано три группы по 10 животных в каждой. Животным первой группы вводили внутримышечно колианатоксин в объеме 0,15 мл, второй – внутримышечно в объеме 0,15 мл стерильный питательный бульон, третьей – ничего не вводили, они были интактными.

В результате проведенных гематологических исследований были получены результаты, которые отражены в таблице 25 и рисунках 39–43.

Через 24 ч после введения колианатоксина у крыс наблюдались существенные изменения в клеточном составе крови, что свидетельствует о выраженном реагировании их организма на введенное вещество. Эти изменения касались как красных клеток, так и белых клеток крови. В частности, у подопытных животных достоверно относительно интактных животных увеличилось ко-

личество эритроцитов и гемоглобина (соответственно на 14,5 и 19,0 %), а также количество лейкоцитов (на 22,2 %). В общем пуле лейкоцитов произошло значительное изменение в содержании нейтрофильных и лимфоидных клеток. Количество первых увеличилось на 93,9 %, а вторых, напротив, уменьшилось на 19,8 %. Данные изменения свидетельствуют о достаточно выраженном клеточном ответе организма на антигенное раздражение, выражающееся мобилизацией системы нейтрофильных гранулоцитов, играющих ключевую роль в неспецифической защите макроорганизма. То, что эти изменения связаны действительно с антигенами эшерихий, подтверждается результатами гематологических исследований крыс второй группы, которым вводили стерильный питательный бульон.

Таблица 25 – Индикаторные показатели клеток крови белых крыс после введения им инаktivированных токсинов *E. coli* (n = 10, M ± m)

Группа	Показатель				
	эритроциты, 10 ¹² /л	гемоглобин, г/л	лейкоциты, 10 ⁹ /л	нейтрофилы, %	лимфоциты, %
Через 24 ч после введения					
1 (КА)	7,1 ± 0,1*	126,5 ± 6,0*	9,9 ± 0,2*	28,7 ± 1,5*	66,7 ± 4,6*
2 (ПБ)	7,5 ± 0,3*	124,6 ± 4,4*	8,5 ± 0,6	18,2 ± 2,1	79,8 ± 4,7
3 (интактные)	6,2 ± 0,4	106,3 ± 5,1	8,1 ± 0,3	14,8 ± 1,4	83,2 ± 5,4
Через 72 ч после введения					
1 (КА)	6,8 ± 0,1	109,3 ± 3,0	11,5 ± 0,3*	20,7 ± 1,5*	75,2 ± 2,6*
2 (ПБ)	6,5 ± 0,3	108,0 ± 6,1	8,3 ± 0,6	17,8 ± 2,1	80,8 ± 5,6
3 (интактные)	6,4 ± 0,4	105,6 ± 5,0	8,5 ± 0,4	15,8 ± 1,4	82,2 ± 2,1
Через 120 ч после введения					
1 (КА)	6,7 ± 0,6	104,7 ± 3,3	10,2 ± 0,5*	13,4 ± 0,3	84,7 ± 4,9
2 (ПБ)	6,4 ± 0,7	101,1 ± 4,8	8,5 ± 1,1	15,0 ± 1,5	82,3 ± 4,4
3 (интактные)	6,3 ± 0,2	102,3 ± 3,0	8,3 ± 0,1	14,7 ± 0,6	81,3 ± 2,5
Через 168 ч после введения					
1 (КА)	6,5 ± 0,8	106,0 ± 0,4	8,9 ± 0,2	15,3 ± 0,6	82,1 ± 2,0
2 (ПБ)	6,3 ± 0,6	102,5 ± 2,3	8,2 ± 0,3	14,7 ± 0,9	80,3 ± 3,1
3 (интактные)	6,2 ± 0,1	104,7 ± 1,2	8,1 ± 0,2	14,5 ± 0,2	81,2 ± 2,1
Примечание: * – P < 0,05 (относительно интактных животных).					

У животных второй группы также зафиксировали достоверное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина, что в большей степени, как мы полагаем, связано с гидролизатом крови, входящим в состав питательной среды, который является источником не только аминокислот, но и железа. Со стороны белых клеток крови у животных этой группы были изменения аналогичные животным первой группы, но достоверного отличия от показателей у интактных животных не было, что свидетельствует о не выраженных антигенных свойствах питательного бульона.

Спустя 72 ч изменение со стороны количественного содержания эритроцитов и гемоглобина у животных первой и второй группы, которые были зафиксированы через 24 ч, не имело дальнейшего достоверного развития, хотя и было на 1,70–6,25 % большим по сравнению с интактными животными. В последующем эти показатели у крыс всех трех групп не имели достоверных различий и были примерно на одинаковом уровне. Аналогичная тенденция была и со стороны белых клеток крови, но только у животных второй группы. Интерпретируя полученный результат можно сделать вывод, что через 72 ч действие ингредиентов бульона прекращает свое действие, в тоже время действие анатоксина имело продолжение.

У животных первой группы через 72 ч зафиксировали дальнейшее увеличение количества лейкоцитов на 16,2 % (до $11,5 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$) от первоначального значения. При этом в их пуле количество нейтрофилов снизилось на 8,0 %, а количество лимфоцитов повысилось на 8,5 %. Эти изменения могут свидетельствовать о том, что первая фаза иммунного ответа в виде активизации системы фагоцитоза в ответ на введение инактивированных токсинов кишечной палочки завершается к 72 ч.

Через 120 ч после введения колианатоксина количество лейкоцитов у животных из первой группы снизилось на 8,7 % по сравнению с исследованиями, проведенными через 72 ч, но по-прежнему оставались достоверно более высокими по сравнению с животными из третьей группы. Анализ лейкограммы показал, что наблюдаемый лейкоцитоз был обусловлен за счет увеличения числа

лимфоцитов. Данная картина может свидетельствовать о том, что начинала реализовываться эффекторная стадия иммунного ответа, проявляющаяся в виде увеличения количества лимфоцитов – клеток, непосредственно участвующих в регуляции иммунного ответа и выработки антител.

Через 168 ч после введения анатоксина гематологические показатели у животных всех групп не показали достоверных различий, что может указывать на завершение действия антигенного раздражения и формирование гуморального ответа.

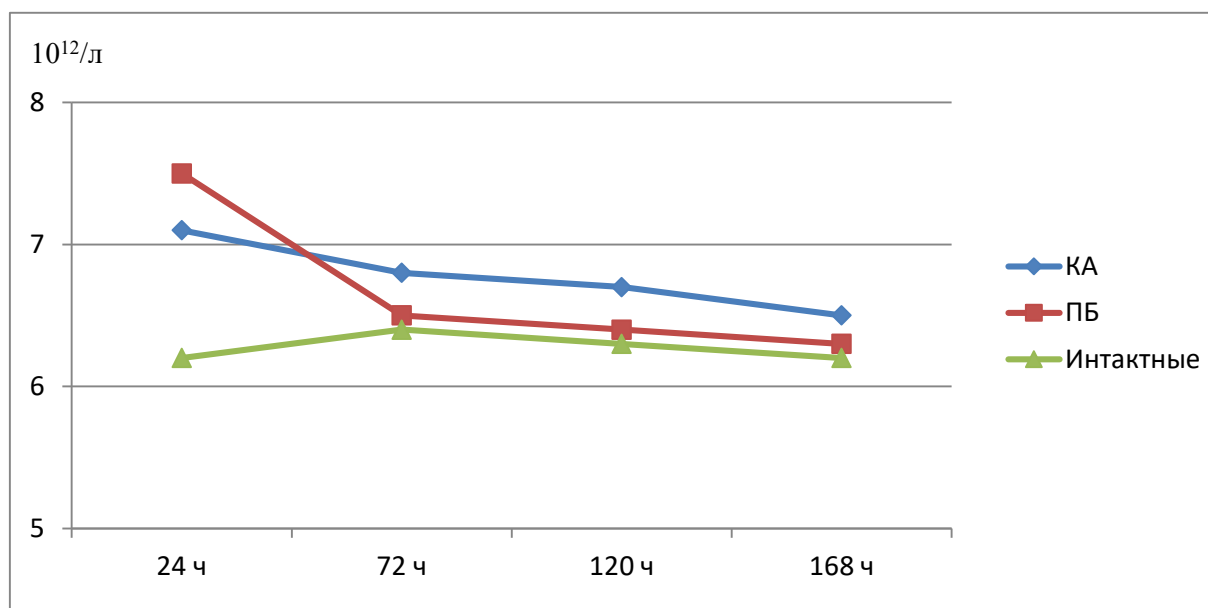


Рисунок 39 – Динамика изменения количества эритроцитов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

Таким образом, проведенные исследования показали, что колианатоксин вызывает заметные изменения в картине крови у животных, проявляющиеся первоначально в течение 24 ч относительным эритроцитозом, лейкоцитозом, нейтрофилией и лимфопенией. В последующем основные события разворачиваются исключительно в лейкоцитарном пуле. Количество данных клеток к 72 ч после введения колианатоксина достигает максимального значения и превышает таковое у интактных животных на 35,3 %. Расчет лейкоформулы показал, что лейкоцитоз обусловлен увеличением в крови количества лимфоцитов, хотя количество нейтрофильных гранулоцитов по-прежнему оставалось

высоким. Только спустя 120 ч соотношение лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов у подопытных крыс стало примерно таким же, как у животных из контрольных групп, хотя общее количество лейкоцитов оставалось на 20,0–22,9 % большим. А через 168 ч качественные и количественные показатели морфологического состава крови у животных из опытной и контрольных групп сравнивались и достоверно не различались [194; 195; 197; 202; 207; 471].

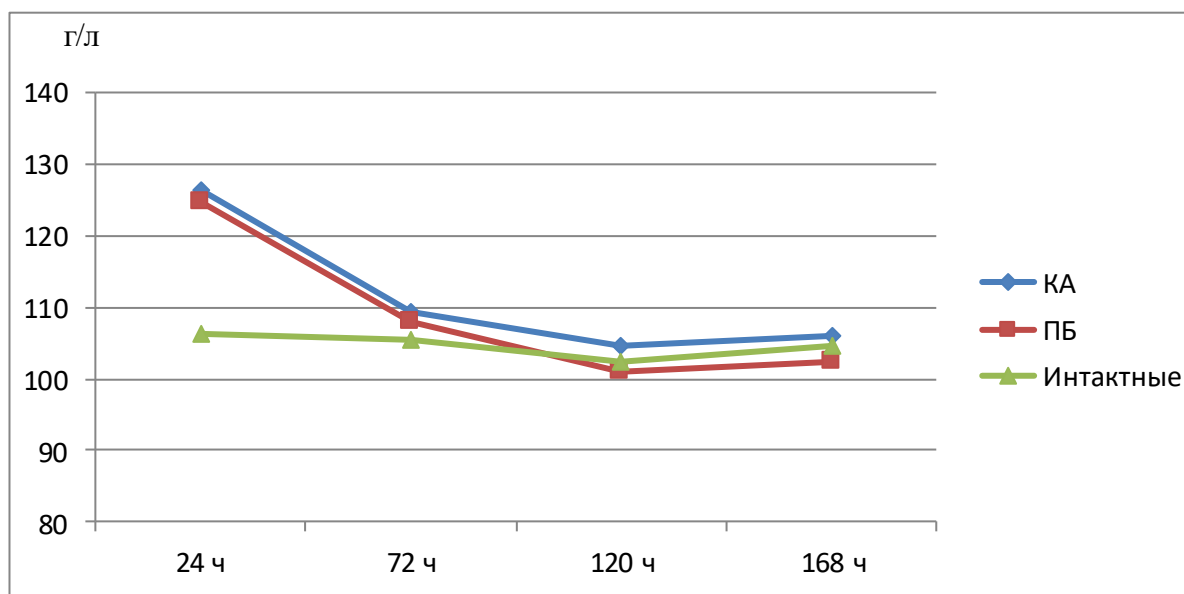


Рисунок 40 – Динамика изменения количества гемоглобина под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

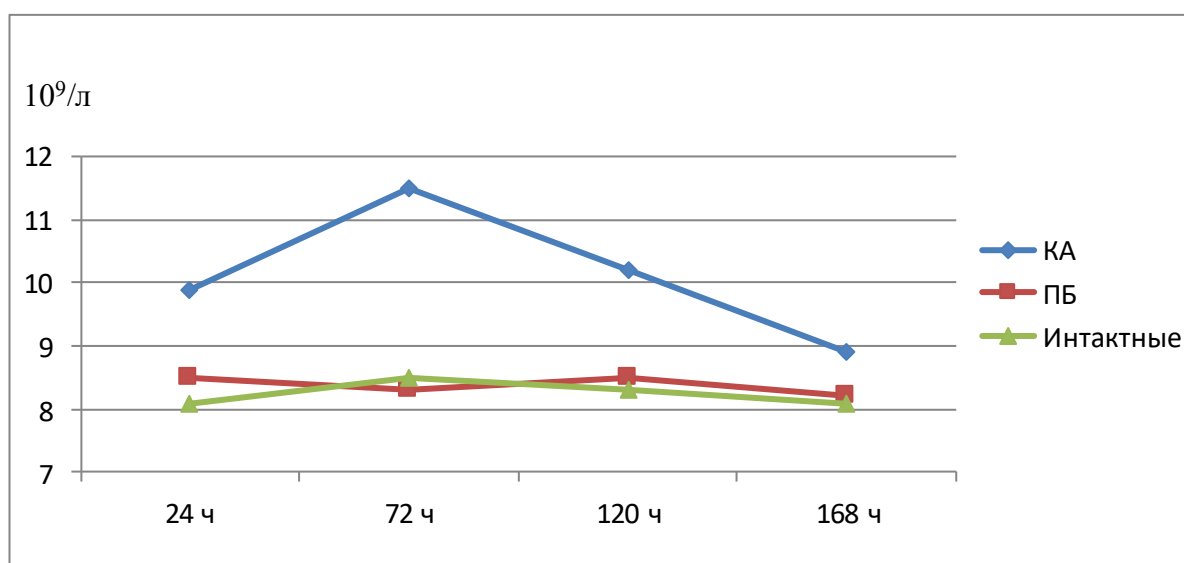


Рисунок 41 – Динамика изменения количества лейкоцитов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

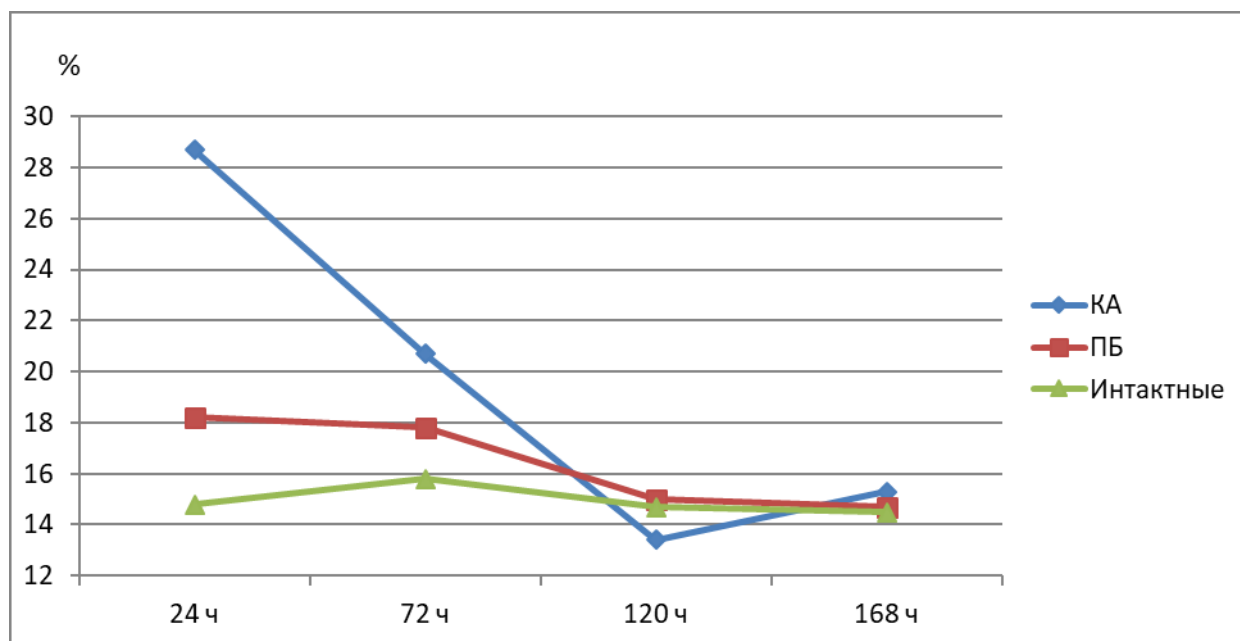


Рисунок 42 – Динамика изменения процентного количества нейтрофилов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

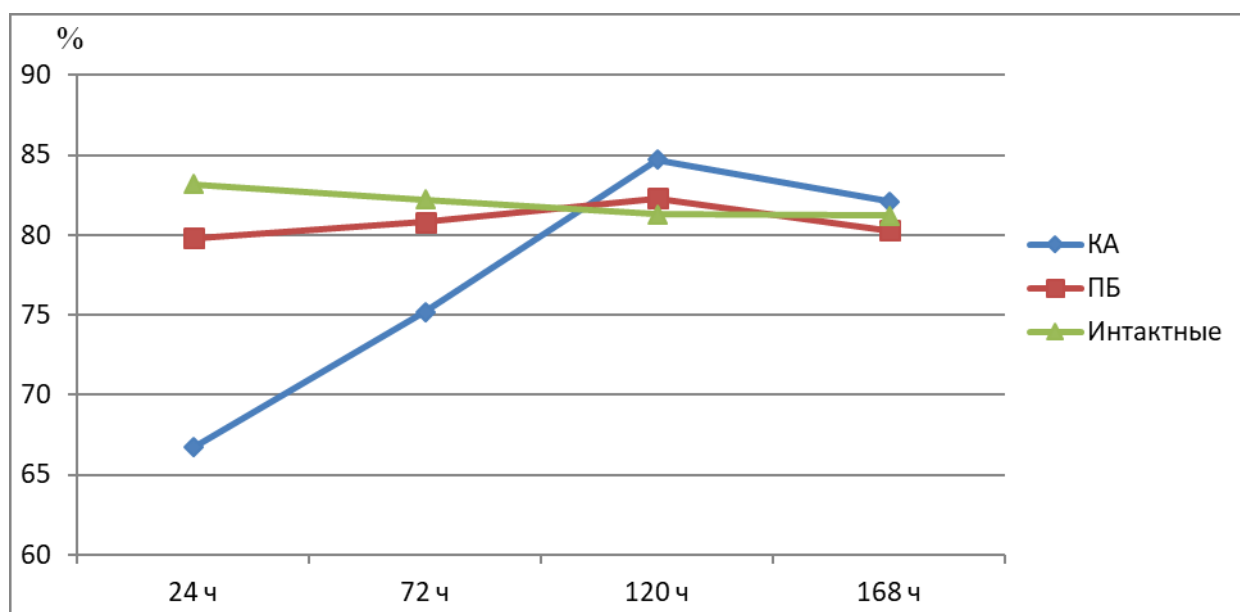


Рисунок 43 – Динамика изменения процентного количества лимфоцитов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

Данные изменения свидетельствуют о явном гематостимулирующем действии колианатоксина. При этом если повышение количества эритроцитов и гемоглобина можно увязать с действием питательного бульона, так как аналогичный эффект был получен у крыс, которым ввели стерильный питательный

бульон, то изменения со стороны лейкоцитов и соотношения их популяций произошли исключительно за счет инактивированных метаболитов кишечной палочки. Исследования также показали, что хотя реакция организма на введение растворимых антигенов *E. coli* развивается достаточно быстро, протекает она непродолжительно, поскольку спустя 7 дней картина крови животных почти не отличается от таковой у интактных особей.

На следующем этапе изучили влияние колианатоксина на систему фагоцитоза. Естественные механизмы защиты животного в виде факторов врожденного и адаптивного иммунитета являются ключевыми по отношению к возбудителям инфекционных болезней. Одним из проявлений механизма врожденного иммунитета является система фагоцитоза, которую обеспечивают в основном два вида клеток – нейтрофильные гранулоциты и макрофаги/моноциты. Данные клетки не только уничтожают антигены, но и участвуют в регуляции иммунного ответа и воспаления. Поскольку нейтрофилы являются наиболее многочисленной популяцией, чем макрофаги/моноциты, поэтому они первыми осуществляют защиту организма от патогенов и первыми выступают в роли эффекторов врожденного иммунитета [91; 95].

В ходе исследований мы обнаружили, что в течение первых 24 ч после инъекции колианатоксина у подопытных животных наблюдается значительное увеличение числа нейтрофильных гранулоцитов в крови. Однако важно было определить, ограничивается ли это изменение только количественными показателями или же затрагивает функциональную активность клеток. Для этого мы провели детальное исследование, направленное на изучение влияния колианатоксина на основные функции нейтрофилов: их способность к фагоцитозу (захвату и уничтожению патогенов) и микробицидную активность. Полученные результаты позволят глубже понять механизмы действия препарата и его потенциал как профилактического средства при эшерихиозе.

Результаты опыта показали, что введенные парентерально белым крысам субстраты – колианатоксин и питательный бульон, оказали стимулирующее влияние на функциональную активность нейтрофилов (таблица 26 и рисунок

ки 44–46). По отношению к интактным животным у подопытных спустя 24 ч после введения достоверно увеличилась фагоцитарная активность нейтрофилов, количество захваченных одним активным нейтрофилом бактерий и индекс завершенного фагоцитоза. Особенно существенно повысились показатели фагоцитоза у крыс первой группы. Так, показатель ФАН по отношению к интактным животным увеличился на 36,9 %, ФЧ – в 4,2 раза, переваривающая способность – на 5 %, ИЗФ – в 1,4 раза.

Таблица 26 – Динамика изменения показателей фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов под влиянием инактивированных токсинов кишечной палочки (n = 10, M ± m)

Группа	Показатель			
	ФАН, %	ФЧ 30	% перевар.	ИЗФ
Через 24 ч после введения				
1 (КА)	65,30 ± 4,20*	5,50 ± 0,10*	47,70 ± 2,80	1,70 ± 0,06*
2 (ПБ)	41,20 ± 2,60*	3,40 ± 0,20*	52,30 ± 3,60	1,40 ± 0,03*
3 (интактные)	28,40 ± 2,50	1,30 ± 0,20	42,70 ± 1,70	1,20 ± 0,07
Через 72 ч после введения				
1 (КА)	47,70 ± 1,50*	3,40 ± 0,10*	57,7 ± 1,10*	1,80 ± 0,04*
2 (ПБ)	35,80 ± 2,10	3,10 ± 0,20*	56,20 ± 2,70*	1,50 ± 0,03
3 (интактные)	32,20 ± 3,20	1,90 ± 0,20	43,90 ± 1,60	1,40 ± 0,05
Через 120 ч после введения				
1 (КА)	38,00 ± 2,20*	2,10 ± 0,30	55,70 ± 5,30*	1,40 ± 0,09
2 (ПБ)	32,70 ± 1,50	1,90 ± 0,50	48,90 ± 1,90*	1,20 ± 0,04
3 (интактные)	31,00 ± 2,10	1,40 ± 0,20	41,90 ± 2,90	1,20 ± 0,05
Через 168 ч после введения				
1 (КА)	35,30 ± 3,40	1,70 ± 0,20	45,30 ± 1,60	1,10 ± 0,19
2 (ПБ)	34,10 ± 1,30	1,60 ± 0,30	41,70 ± 4,80	1,20 ± 0,06
3 (интактные)	31,60 ± 2,90	1,90 ± 0,30	39,20 ± 5,90	1,10 ± 0,15
Примечание: * – P ≤ 0,05 (по отношению к интактным животным).				

Через 72 ч захватывающая активность нейтрофилов у животных из первой и второй групп заметно снизилась, но все же оставалась более высокой, чем у крыс

из третьей группы. Особенностью этого временного периода явилось достоверное повышение переваривающей способности нейтрофилов, так у животных первой группы этот показатель увеличился на 13,8 %, а второй – на 12,3 %.

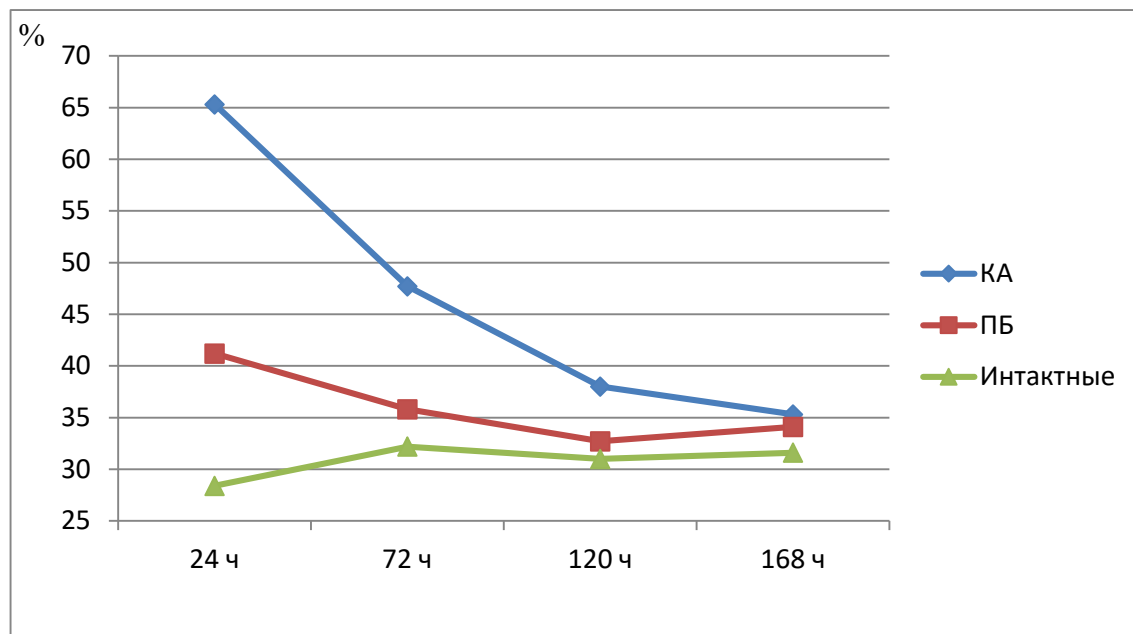


Рисунок 44 – Динамика изменения фагоцитарной активности нейтрофилов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

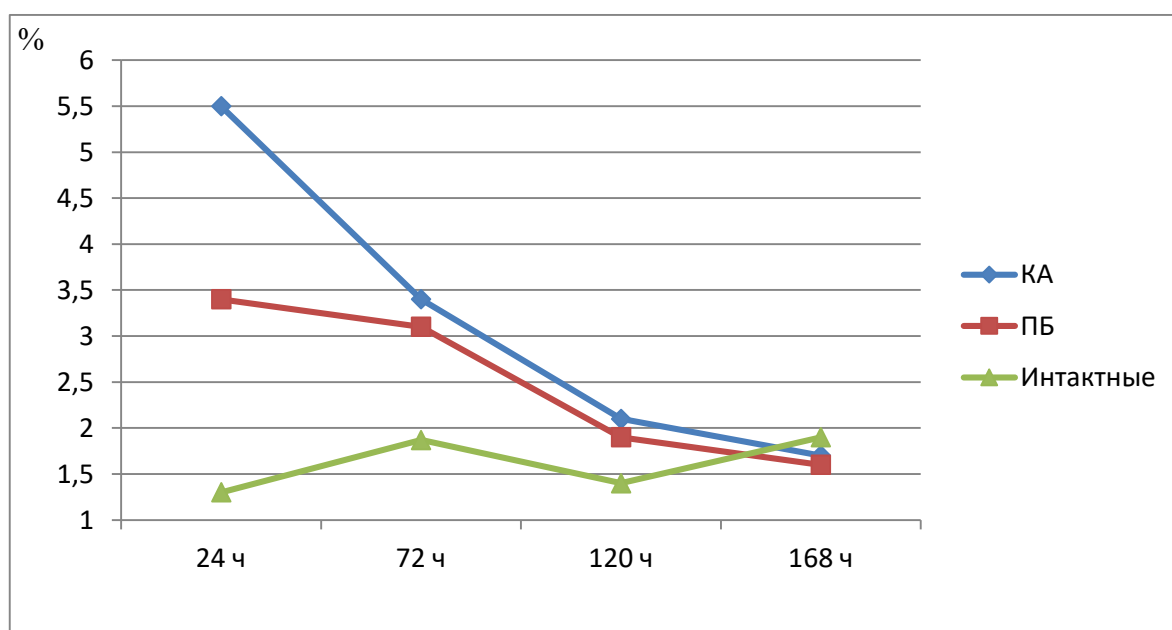


Рисунок 45 – Динамика изменения фагоцитарного числа нейтрофилов под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

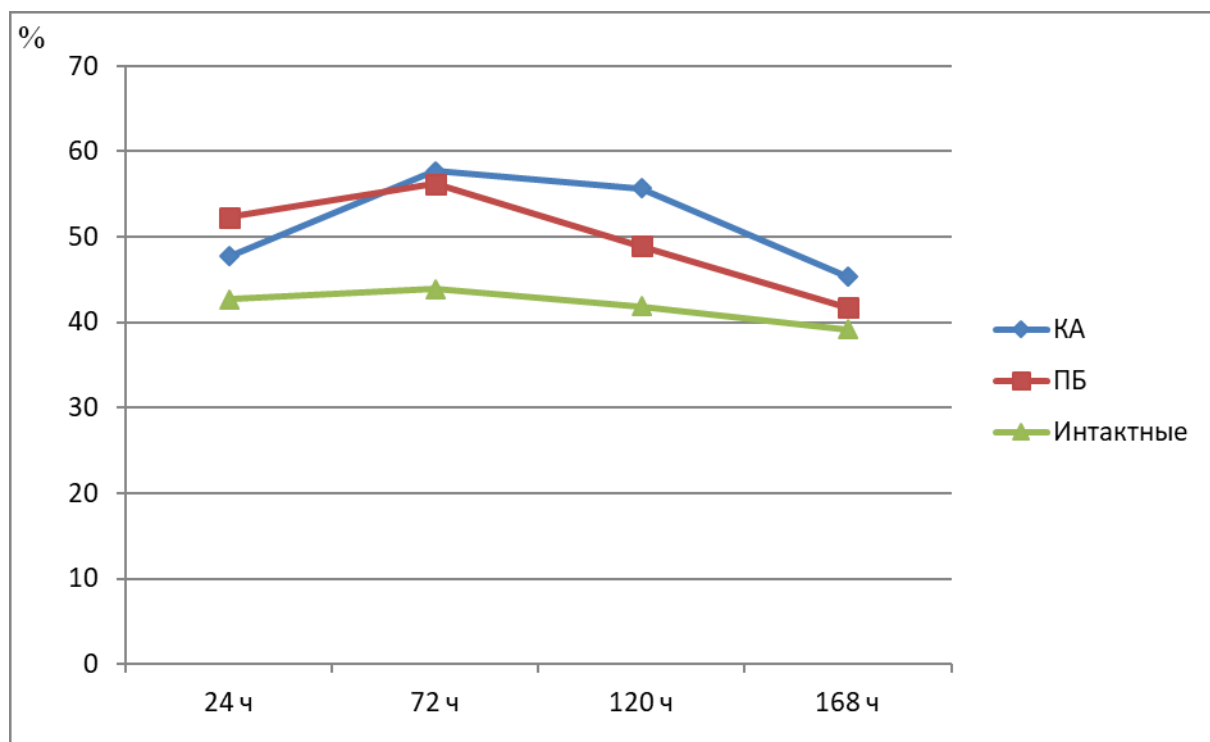


Рисунок 46 – Динамика изменения переваривающей способности нейтрофилов под влиянием инаktivированных токсинов *E. coli*

Такая же тенденция сохранилась спустя 120 ч после введения субстратов – в первой и второй группах показатели активности, захватывающей и переваривающей способности продолжали снижаться и по своим значениям приближаться к показателям у интактных животных. Однако следует отметить, что у животных, которым ввели колианатоксин хотя эти показатели и снизились, но по-прежнему оставались достоверно более высокими по отношению к интактным животным.

Через 168 ч изучаемые показатели фагоцитоза у животных всех групп достоверно не различались между собой.

Таким образом, исследования, проведенные в рамках данного эксперимента, показали, что введение колианатоксина и питательного бульона животным ведет к активизации фагоцитарного звена их иммунной системы. Уже в течение первых 24 ч после инъекции количество фагоцитирующих клеток увеличивалось в значительной степени. По результатам эксперимента после введения крысам колианатоксина поглотительная способность их нейтрофилов возросла

в 5 раз по сравнению с контролем (интактными животными) и в 2,5 раза по сравнению с животными, которым ввели питательный бульон, что свидетельствует о мощном антрактантном влиянии инактивированных эшерихиозных токсинов на фагоциты. Однако, как показали дальнейшие наблюдения, даже спустя 120 ч после введения колианатоксина функциональная активность нейтрофилов несколько снизилась, но все же оставалась значительно выше, чем у животных контрольной группы. Это свидетельствует о том, что введение колианатоксина достаточно продолжительно оказывает стимулирующее действие на фагоцитарные клетки, чем обеспечивает выраженный защитный ответ. Спустя неделю после введения колианатоксина, показатели фагоцитоза у крыс практически сравнялись с контрольными группами, следовательно, стимулирующее воздействие колианатоксина завершилось [194; 195; 203; 302; 470].

Исследования показали, что колианатоксин достаточно сильно побуждает нейтрофилы к захвату антигенного материала, однако интенсивная поглощательная способность не всегда тождественна деградирующей и микробицидной способности. И действительно в течение первых 24 ч переваривающая способность нейтрофилов у подопытных крыс достоверно не отличалась от таковой у интактных, что является свидетельством не соответствия желаяния и возможности деградировать всех захваченных бактерий. Однако в последующем переваривающая способность активированных колианатоксином нейтрофилов повысилась. Для понимания данных процессов были проведены исследования по изучению влияния колианатоксина на кислородзависимые и кислороднезависимые бактерицидные системы нейтрофильных гранулоцитов, принимающие участие в деградации антигенного материала эшерихиозного происхождения [87; 194; 195; 196; 206].

Результаты исследований отражены в таблице 27 и на рисунках 47–51. Из данных материалов видно, что в ферментной системе нейтрофильных гранулоцитов основные изменения происходили в течение первых 24 ч после введения субстратов. Об этом в первую очередь свидетельствуют такие показатели как средний цитохимический индекс и коэффициент мобилизации, которые у крыс

первой группы увеличились в 16 и 1,6 раза соответственно. У крыс второй группы, после введения стерильного бульона, показатель СЦИ также увеличился в 6,5 раз по отношению к интактным животным, а КМ был тождественен в данных группах. Активация микробицидной системы нейтрофилов у животных первой группы произошла в основном за счет кислородзависимых механизмов, в частности миелопероксидазы, СЦИ которой увеличилась в 2 раза по сравнению с интактными животными, а у животных второй группы – за счет кислороднезависимой хлорацетат-АС-Д-эстеразы, активность которой увеличилась в 1,3 раза по сравнению с животными третьей группы. В тоже время цитохимический индекс катионных белков у животных, которым вводили колианатоксин и питательный бульон, снизился в 3 раза и более по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных, что вероятно свидетельствует о блокировании этой микробицидной системы при процессинге растворимых антигенов.

Таблица 27 – Активность микробицидной системы нейтрофилов под влиянием инактивированных токсинов кишечной палочки в различные временные интервалы ($n = 10$, $M \pm m$)

Группа	Показатель				
	СЦИсп	КМ	СЦИ МП	СЦИ ХА	СЦИ КБ
1	2	3	4	5	6
Через 24 ч после введения					
1 (КА)	24,1±0,27*	4,4±0,44*	1,6±0,09*	1,3±0,06*	0,4±0,08*
2 (ПБ)	9,7±0,52*	3,0±0,37	0,9±0,11	1,4±0,11	0,5±0,04*
3 (интактные)	1,5±0,14	2,8±0,23	0,8±0,04	1,1±0,09	1,5±0,18
Через 72 ч после введения					
1 (КА)	13,4±0,35*	3,3±0,29	1,3±0,02*	1,5±0,03*	0,8±0,05*
2 (ПБ)	5,6±0,22*	2,5±0,12	0,8±0,18	1,3±0,13	0,9±0,09*
3 (интактные)	1,1±0,05	2,9±0,13	0,7±0,09	1,2±0,06	1,3±0,14
Через 120 ч после введения					
1 (КА)	12,9±0,12*	3,2±0,21	1,1±0,08*	1,4±0,08*	1,1±0,15
2 (ПБ)	4,6±0,31*	2,9±0,35	0,8±0,10	1,2±0,10	1,0±0,27

Продолжение таблицы 27

1	2	3	4	5	6
3 (интактные)	1,4±0,09	2,7±0,18	0,6±0,09	1,1±0,12	1,4±0,06
Через 168 ч после введения					
1 (КА)	10,7±0,44*	2,9±0,15	0,8±0,04	1,2±0,23	1,3±0,12
2 (ПБ)	2,8±0,52	2,8±0,98	0,7±0,05	1,2±0,11	1,2±0,07
3 (интактные)	1,8±0,30	2,4±0,33	0,7±0,15	1,1±0,13	1,5±0,12
Примечание: * – $P < 0,05$ (по отношению к интактным животным).					

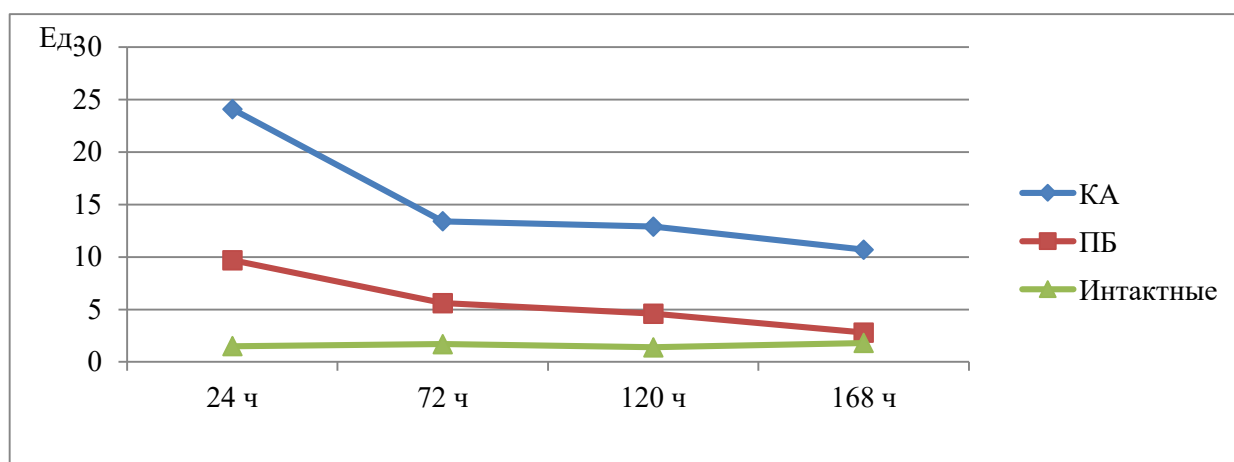


Рисунок 47 – Динамика изменения СЦИ_{сп} нейтрофилов
под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

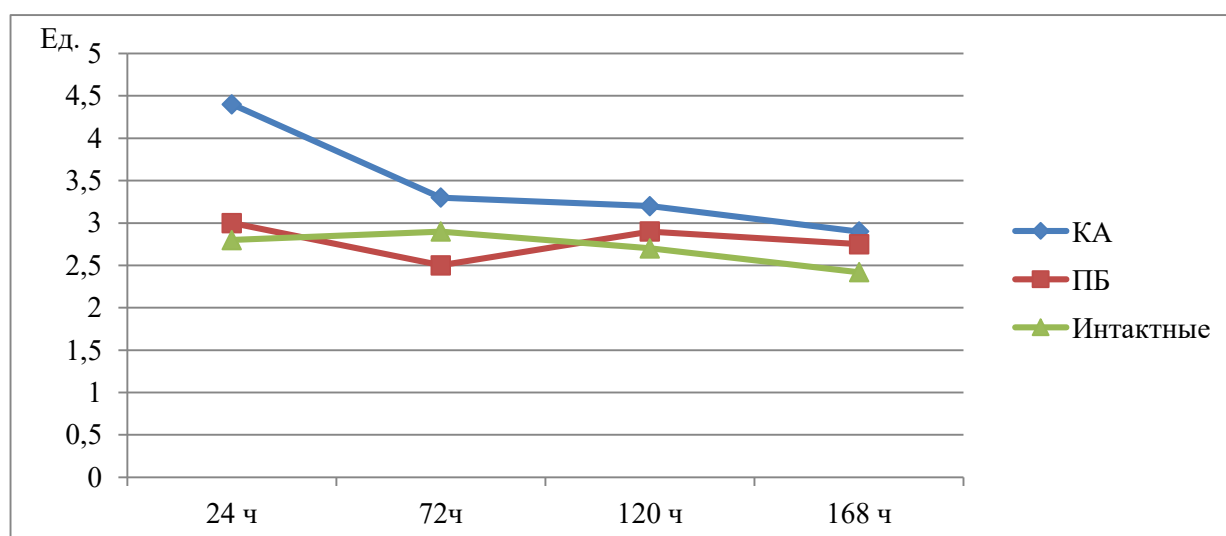


Рисунок 48 – Динамика изменения КМ нейтрофилов
под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

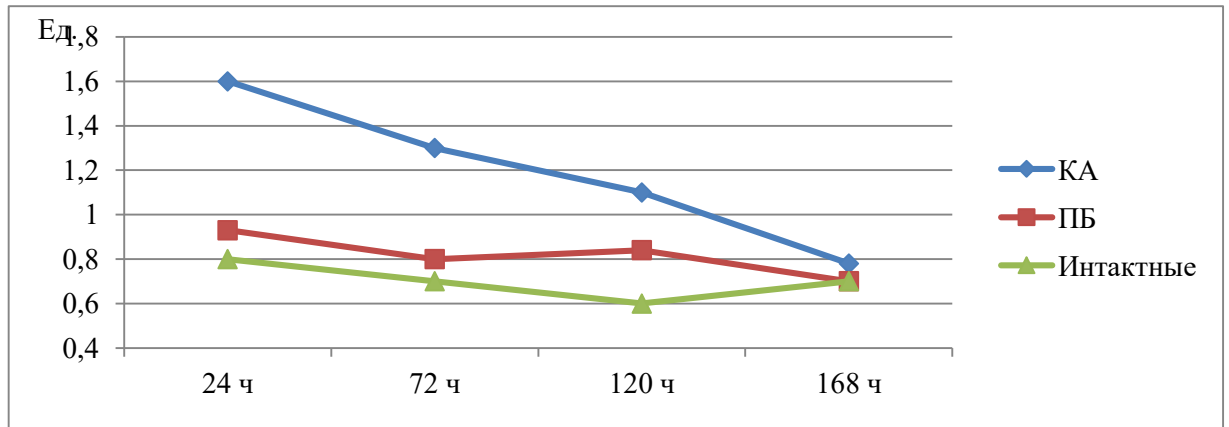


Рисунок 49 – Динамика изменения СЦИ МП нейтрофилов
под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

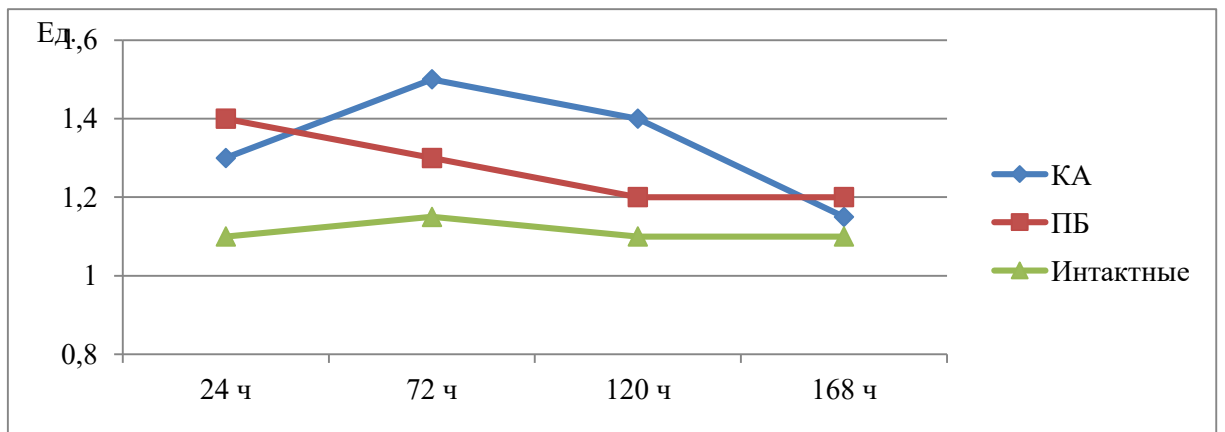


Рисунок 50 – Динамика изменения СЦИ ХА нейтрофилов
под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

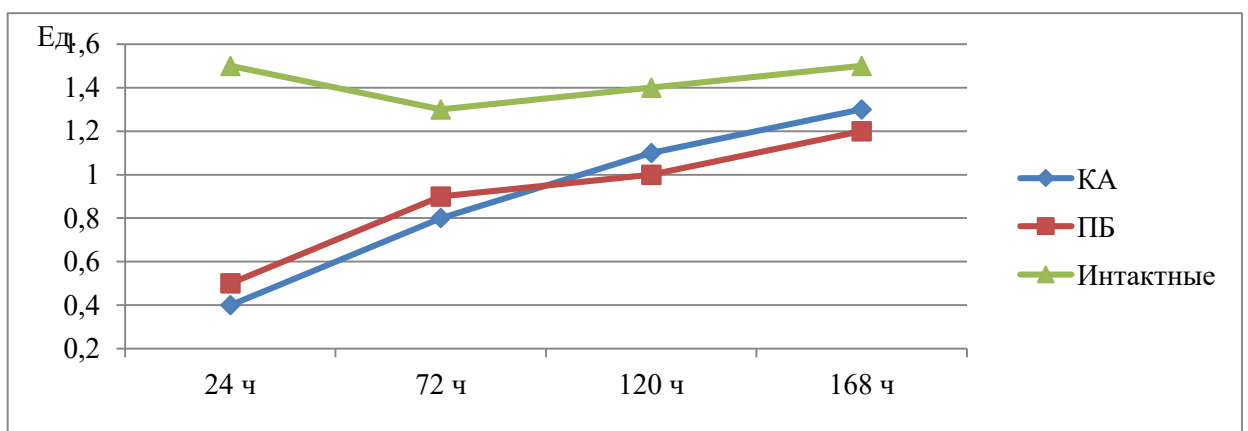


Рисунок 51 – Динамика изменения СЦИ КБ нейтрофилов
под влиянием инактивированных токсинов *E. coli*

Через 72 ч после введения питательного бульона и колианатоксина активность микробицидной системы нейтрофилов у крыс снизилась в 1,7–1,8 раза от первоначального значения, но все же превышала таковую у интактных животных в 5–12 раз, что указывает на сохраняющееся стимулирующее действие субстратов. Однако резервные способности нейтрофилов у животных первой и второй группы достоверно не отличались от таковых у третьей группы. Исследования показали, что миелопероксидазная кислородзависимая микробицидная система была более активна у крыс первой группы, тогда как во второй группе ее активность соответствовала уровню интактных крыс. Это может означать, что инактивированные токсины кишечной палочки оказывают более выраженный и продолжительный стимулирующий эффект на нейтрофилы. Интересным в этом плане оказались данные по показателю активности хлорацетатэстеразы, представителю кислороднезависимой микробицидной системы. СЦИ ХА нейтрофилов у животных первой группы увеличился на 15,4 %, тогда как у второй уменьшился на 7,2 %. Из этого следует полагать, что через 72 ч после введения колианатоксина основная антигендеградирующая функция переходит от кислородзависимых механизмов к кислороднезависимым, а именно к хлорацетатэстеразе – химотрипсинподобному ферменту, который и обеспечивает протеолитическую и переваривающую активность нейтрофилов.

Через 120 ч основные достоверные отличия в состоянии микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов отмечены только у крыс, которым был введен колиантоксин. У крыс, которым ввели питательный бульон, практически по всем тестируемым показателям, характеризующим микробицидную активность нейтрофильных гранулоцитов, достоверных различий с интактной группой животных не было. Однако достоверно более высоким оставался средний цитохимический индекс, который свидетельствует о сохраняющейся более высокой суммарной активности нейтрофилов у животных данной группы. У животных первой группы изучаемые показатели в своей динамике, хотя уменьшились, но все же оставались достоверно более высокими, чем у интактных животных. Так, средний цитохимический индекс был выше в 9,2 раза, показатель

активности миелопероксидазы – в 1,8 раза, показатель активности хлорацетатэстеразы – в 1,3 раза, а показатель активности катионных белков приблизился к таковому у интактных животных.

Спустя 168 ч показатели состояния микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов у животных разных групп практически сравнивались между собой. Тем не менее, у животных из первой группы сохранялась значительно более высокая суммарная активность кислородзависимой системы нейтрофилов, о чем свидетельствовал показатель СЦИсп, который был в 5,9 раза выше по сравнению с животными из группы отрицательного контроля.

Таким образом, результаты эксперимента продемонстрировали, что введение как колианатоксина, так и питательного бульона в значительной степени оказывали стимулирующее влияние не только на захватывающую способность нейтрофильных гранулоцитов, но и их микробицидную систему. Однако действие колианатоксина было значительно более сильным и продолжительным и характеризовалось в течение первых 24 ч мощной стимуляцией кислородзависимой системы, что можно было даже обозначить как «кислородный взрыв». В дальнейшем в процесс деградации токсидных белков вовлекалась кислороднезависимая система. Однако, как оказалось при этом были востребованы не все механизмы кислороднезависимой системы, так уровень катионных белков резко падал, в то время как хлорацетатэстеразы, напротив, возрастал. Примечательным также является то обстоятельство, что, несмотря на мощную стимуляцию микробицидной системы, резервные возможности фагоцитов сохранялись, а это свидетельствует об отсутствии гипервозбуждения и полном расходовании резервных возможностей у фагоцитирующих клеток. Несмотря на то, что спустя 168 ч после введения колианатоксина показатели ферментативной системы у подопытных животных практически сравнивались с показателями интактных животных, тем не менее, метаболическая активность нейтрофилов у экспериментальных животных все еще была выше, чем у контрольных. Данное обстоятельство свидетельствует о значительном стимулирующем действии колианатоксина на систему врожденного иммунитета и его потенциальном использовании в качестве биопрепарата [87; 194; 195; 196; 206; 470].

3.6 Повышение иммуногенных свойств колианатоксина

Работы ряда исследователей показали, что экзотоксины *E. coli* обладают выраженными антигенными свойствами, однако иммуногенная активность у них слабая, что осложняет их использование в вакцинах [49; 50; 61; 479]. Как показали наши исследования, после введения колианатоксина лабораторным животным у них уже через несколько часов происходила выработка антител, но их уровень был невысоким и фиксировался непродолжительное время, что является свидетельством низкой иммуногенности антигенного материала [62; 198]. В этом случае для усиления и увеличения продолжительности иммунного ответа используются адъюванты. Классическим примером является гидроокись алюминия (ГОВА), которую используют для повышения иммуногенности цельноклеточных, компонентных и токсинных антигенов. Однако различные адъюванты могут по-разному влиять на иммуногенность антигена, что связано как с их совместимостью, так и реакцией иммунной системы на вводимый антигенный комплекс [1; 10; 24; 134; 165; 272; 364; 458].

3.6.1 Влияние различных адъювантов на иммуногенные свойства колианатоксина

В своих исследованиях мы опробовали в качестве адъювантов для колианатоксина ГОВА, полиакриловую кислоту (ПАК), липополисахарид (ЛПС) и минеральное масло (масляный адъювант, МА). Предварительные исследования показали, что введение колианатоксина с данными адъювантами обуславливает у животных более выраженную активизацию функциональных способностей НГ, чем без них. При этом активизация проявлялась не только увеличением количественных показателей фагоцитоза, но и продолжительностью сохранения эффекта стимуляции [194; 195; 199]. Следовательно, апробированные адъюванты способствовали усилению неспецифического реагирования организма животных на введение колианатоксина.

На следующем этапе исследований необходимо было выяснить, как сказались использование адъювантов на выработке специфических антител к токсинам кишечной палочки. Данные исследования включали в себя две серии опытов. Первая серия заключалась в исследовании иммуногенной активности КА при однократном введении, по результатам которой мы смогли бы ответить на такие вопросы как: время появления специфических антител, время максимального уровня и продолжительность циркулирования антитоксических антител. Вторая серия опытов должна была дать ответ о возможности и эффективности бустерного (повторного) введения КА.

Результаты данного исследования показали, что у животных уже через 24 ч в сыворотке крови появлялись антитела к токсинам *E. coli* (таблица 28). Однако уровень их был неодинаков. У тех крыс, которым ввели КА без адъювантов, титр антител находился в пределах $2,6 \log_2$, в то время как у животных, которым КА вводили с адъювантами, он был в 1,2–1,4 раза выше.

Таблица 28 – Титр специфических антител в сыворотке крови крыс после однократного введения колианатоксина в сочетании с адъювантами ($n = 10$, $M \pm m$)

Группа	Титр антител по дням после введения препаратов, $\log_2$						
	1	2	3	5	7	14	21
1 (интактные)	—	—	—	—	—	—	—
2 (КА)	$2,6 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,4$	$3,6 \pm 0,5$	$4,0 \pm 0,6$	$3,8 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,7$
3 (КА+ЛПС)	$3,6 \pm 0,8$	$4,6 \pm 0,3^*$	$4,8 \pm 0,9$	$5,8 \pm 0,4^*$	$6,2 \pm 0,6^*$	$6,0 \pm 0,6^*$	$5,4 \pm 0,5^*$
4 (КА+ГОА)	$3,4 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,5^*$	$4,6 \pm 0,8$	$5,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,5$	$5,6 \pm 0,4^*$	$4,8 \pm 0,7^*$
5 (КА+ПАК)	$3,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,5^*$	$5,4 \pm 0,5^*$	$5,6 \pm 0,5$	$6,0 \pm 0,6^*$	$5,8 \pm 0,7^*$	$5,2 \pm 0,4^*$
6 (КА+МА)	$3,2 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4^*$	$4,8 \pm 0,9$	$5,4 \pm 0,5$	$5,6 \pm 0,5^*$	$5,6 \pm 0,4^*$	$5,8 \pm 0,3^*$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению ко 2-й группе).							

У интактных животных вообще на протяжении всего срока наблюдения специфических антител выявлено не было.

Через 2 сут после введения КА установили повышение концентрации антитоксических антител. Причем у крыс 2-й группы она увеличилась в 1,1 раза, 3-й – в 1,3 раза, 4-й – в 1,4 раза, 5-й – 1,6 раза, 6-й – в 1,5 раза, т. е. у всех крыс, которым КА ввели вместе с различными адъювантами, продукция антител была наиболее интенсивной.

В последующие дни уровень специфических антител продолжал расти. Однако время окончания роста концентрации антител и ее величина у животных из разных групп была неодинаковой. У крыс, которым КА ввели без адъювантов, максимальное значение титра антител было установлено на 5-й день и составило $4,0 \log_2$. После этого отметили постепенное снижение концентрации антител, и через 21 день она сравнялась по значению с первым днем. У крыс, которым ввели КА с ЛПС и ПАК, пик накопления антитоксических антител произошел на 7 сут после введения. К этому времени у животных из 3-й группы в сыворотке крови антитоксические антитела достигли концентрации $6,2 \log_2$, а у животных из 5-й группы – $6,0 \log_2$. После этого титр антител стал снижаться и к концу срока наблюдения (21 сут) стал равен $5,4 \log_2$ у крыс из 3-й группы и $5,2 \log_2$ у крыс из 5-й группы.

У животных, которым КА ввели вместе с ГОА, максимальный уровень антитоксических антител зарегистрирован через 14 дней после введения и составил $5,6 \log_2$. К 21 дню у крыс из этой группы также установили понижение титра антител в 1,2 раза до $4,8 \log_2$.

У крыс из 6-й группы, которым КА вводили с МА, накопление специфических антител происходило в течение всего срока наблюдения. После резкого повышения (на 50 %) концентрации антител, отмеченное нами на 2 сут, в последующие дни вплоть до срока окончания наблюдения она повышалась медленно. На 21 день после введения анатоксина, у животных из 6-й группы была зафиксирована максимальная концентрация антитоксических антител, которая составила $5,8 \log_2$.

Таким образом, результаты исследования показали, что использование адъювантов существенно повышает иммуногенность колианатоксина. Это про-

является в том, что у подопытных животных специфические антитела также появляются уже через 24 ч после введения токсидных препаратов, однако уровень антител был в 1,2–1,4 раза выше, чем у животных которым вводили анатоксин без адъювантов. Из этого следует, что адъюванты обеспечивают большую привлекательность анатоксина для фагоцитирующих, антигенпредставляющих и иммуноглобулинпродуцирующих клеток, побуждая их к повышению своей функциональной активности. Кроме того, добавление к КА различных адъювантов привело не только к активизации выработки антител, но и продолжительности их продуцирования, а, следовательно, и продолжительности циркуляции в организме. Так если после введения КА без адъювантов уровень специфических антител повышался в течение 5 дней, а затем начал снижаться, то при введении КА с ПАК и ЛПС, рост антител продолжался до 7 дней, с ГОА – до 14 дней, а с МА – до 21 дня.

Исходя из полученных данных была проведена бустерная обработка животных. При этом повторное введение КА осуществили через 5 дней после первого введения, КА с ЛПС и ПАК – через 7 дней, КА с ГОА – через 14 дней, КА с МА – через 21 день. Через каждые 7 дней после повторного введения колианатоксина проводили отбор крови и исследовали уровень специфических антител. Было установлено, что у крыс, которым ввели КА без адъювантов, через 7 дней после повторного введения титр антител увеличился в 2 раза и составил $5,2 \log_2$ (таблица 29). После этого отметили снижение концентрации антител, уровень которых спустя 28–35 дней достиг минимальных значений и составил 3,0 и $2,2 \log_2$ соответственно.

После повторного введения КА с адъювантами установили следующее. У крыс, которым ввели КА с ЛПС и ПАК, через 7 дней после повторного введения уровень сывороточных антител увеличивался на 30,0–32,2 % по сравнению со значениями титра, установленного в период максимального подъема (7 сут). Но через 14 дней у крыс из этих групп титр антител начал снижаться, хотя по-прежнему оставался достаточно высоким – 7,4 и $7,6 \log_2$ соответственно.

К 35 сут после повторного введения он находился в пределах 5,6–5,8 $\log_2$, что в 2,5–2,6 раза большим, чем в группе, где применялся анатоксин без адъювантов.

У животных, которым инъецировали КА с ГОА через 7 дней после повторного введения уровень антител увеличился на 14 %, однако через 7 дней он вырос еще на 15 %, таким образом, после первого введения увеличение титра антител произошло на 32 %. В последующем концентрация антитоксических антител у животных этой группы стала снижаться, достигнув величины 5,0 $\log_2$ к 35 дню.

Таблица 29 – Титр специфических антител в сыворотке крови крыс после повторного введения КА в сочетании с адъювантами ($n = 10$, $M \pm m$)

Группа	Титр антител по дням после повторного введения колианатоксина, $\log_2$				
	7	14	21	28	35
1 (КА)	5,20 $\pm$ 0,40	4,4 $\pm$ 0,5	3,4 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 0,7
2 (КА+ЛПС)	8,20 $\pm$ 0,70*	7,4 $\pm$ 0,7*	7,2 $\pm$ 0,4*	6,8 $\pm$ 0,6*	5,8 $\pm$ 0,7*
3 (КА+ГОА)	6,40 $\pm$ 0,50	7,4 $\pm$ 0,5*	6,8 $\pm$ 0,6*	6,2 $\pm$ 0,7	5,0 $\pm$ 0,6
4 (КА+ПАК)	7,80 $\pm$ 0,50	7,6 $\pm$ 0,5*	7,4 $\pm$ 0,5*	6,4 $\pm$ 0,5*	5,6 $\pm$ 0,5*
5 (КА+МА)	7,80 $\pm$ 1,02	8,0 $\pm$ 0,8	9,4 $\pm$ 0,5*	8,6 $\pm$ 0,5*	7,0 $\pm$ 0,6*
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 1-й группе).					

Интересными оказались данные, полученные по группе животных, которых дважды иммунизировали КА с МА. Оказалось, что в этой группе был получен самый высокий показатель прироста поствакцинальных антител. Так, через 7 дней зафиксировали его увеличение на 34,5 %, через 14 дней – на 37,9 %, а через 21 день – на 62,1 %. В последующие дни происходило снижение количества антител и к 35 дню после повторного введения КА с МА в сыворотке крови крыс титр специфических антител составил 7,0 $\log_2$. Это был самый высокий показатель по группам. При этом он превышал таковой по группе крыс, которым вводили КА без адъювантов в 3,2 раза.

Таким образом, результаты проведенного опыта показали, что бустерная обработка дает несомненно позитивный результат. Использование в качестве адъювантов ЛПС, ПАК и МА в случае создания невосприимчивости к токсинам *E. coli* считаем более предпочтительным, так как при введении КА с данными адъювантами в одном случае формируется достаточно высокий уровень антител уже через 7 дней, а в другом он сохраняется даже спустя 35 дней [54; 194; 195; 204; 205].

Следовательно, для растворимого, с низкой молекулярной массой антигена, коим являются токсины патогенных *E. coli*, лучшими адъювантами могут быть бактериальные липополисахариды и синтетические полиэлектролиты, которые обеспечивают быстрое накопление специфических антител, а также масляный адъювант, который в 3 раза увеличивает время циркуляции этих антител.

3.6.2 Влияние адъювантов на протективные свойства колианатоксина

В результате ранее проведенных расчетов было установлено, что летальная доза токсинов, приводящая к гибели 50 % животных, составляет 0,043 мл. При проведении исследований предварительно однократно иммунизированных мышей через 7 дней после введения КА заразили смесью токсинов в объеме 3 LD₅₀ (0,129 мл), тем самым намеренно увеличили заражающую дозу, поскольку при добавлении адъювантов иммунный ответ у животных должен быть выше. При этом для иммунизации использовали КА без адъювантов и с адъювантами – ЛПС и ПАК, так как именно эти адъюванты обеспечивали наиболее быстрое накопление антитоксических антител, чем ГОА и МА.

Через несколько часов после введения токсинов у большинства животных наблюдали проявление токсикоза: общее угнетение, отказ от корма, у некоторых одышка, часть из них обильно потребляла воду. Через 7–9 ч у части заболевших животных, особенно в 2-й, 4-й, 6-й и 7-й группах наблюдали профуз-

ный понос. Характер каловых масс вначале был серозно-катаральным, а затем катарально-геморрагическим. У животных с сильными признаками интоксикации к концу первых, начале вторых суток стали проявляться нейротоксические симптомы: возбуждение, нарушение координации движения, судороги, ослабление рефлексов и кожной чувствительности.

Результаты опыта показали (таблица 30), что после однократной иммунизации погибли все интактные животные. В свою очередь, в опытных группах, где были иммунизированы колианатоксином в чистом виде и колианатоксином с адьювантами протективный эффект составил в пределах 14,3–42,8 %. При этом максимальный результат был у животных 1-й и 3-й групп, у которых защитный эффект достигал соответственно 42,8 и 28,5 %.

Таблица 30 – Количество выживших иммунизированных мышей после введения им смеси токсинов *E. coli*

Группа	Иммунизирующая доза, мл	Количество животных	Заражающая доза, мл	Результат	
				пало	протективный эффект, %
1 (КА+ЛПС)	0,1	7	0,129	2	71,4
2 (КА+ЛПС)	0,2	7		2	71,4
3 (КА+ПАК)	0,1	7		2	71,4
4 (КА+ПАК)	0,2	7		3	57,1
5 (КА)	0,1	7		4	42,8
6 (КА)	0,2	7		4	42,8
7 (интактные)	—	7		7	0

При исследовании сыворотки крови иммунизированных мышей (таблица 31) было установлено, что максимальный уровень специфических антител был у животных 1-й и 3-й групп, у которых титр достигал соответственно 4,7 и 4,3 $\log_2$. В 2-й, 4-й, 5-й и 6-й группах титр антитоксических антител составил 4,1, 3,8, 3,3 и 2,7 $\log_2$ соответственно.

Таблица 31 – Титр специфических антител у мышей после однократной иммунизации ($n = 7$, $M \pm m$)

Группа	Иммунизирующая доза, мл	Титр антитоксических антител через 7 дней после однократного введения препаратов, $\log_2$
1 (КА+ЛПС)	0,1	$4,70 \pm 0,34^*$
2 (КА+ЛПС)	0,2	$4,50 \pm 0,40^*$
3 (КА+ПАК)	0,1	$4,30 \pm 0,28^*$
4 (КА+ПАК)	0,2	$4,10 \pm 0,45$
5 (КА)	0,1	$3,30 \pm 0,25$
6 (КА)	0,2	$2,70 \pm 0,50$
7 (интактные)	–	–
Примечание: * – $P < 0,05$.		

Таким образом, нами установлено, что однократная иммунизация не в должной степени обеспечивает защиту животных при экспериментальном заражении токсинами *E. coli*. Данный факт можно объяснить тем, что она не вызывает образование антител в том количестве, которое требуется для защиты животных. При этом повышение иммунизирующей дозы напротив, ведет к угнетению иммунного ответа, что выражается низкой выработкой антител, и как следствие обуславливает развитие иммунобиологической толерантности. Поэтому, учитывая полученные результаты, на следующем этапе исследований использовали двукратную иммунизацию белых мышей. Для чего мышам с интервалом 7 дней инъектировали КА (чистый и в смеси с ЛПС и ПАК) в дозе 0,1 мл. Через 7 дней после последней иммунизации животных заразили смесью токсинов *E. coli* в дозе 3 LD₅₀.

В ходе наблюдения за зараженными животными установили, что развитие основных клинических симптомов после двукратной иммунизации происходит менее выражено (таблица 32). При этом в 1-й опытной группе падежа животных не было, во 2-й группе был отмечен падеж одного животного на пятые сутки после заражения, в 3-й группе пало 4 мыши в течение 6 дней. Интактные животные из 4-й группы пали в течение 2 сут.

Таблица 32 – Развитие клинических симптомов у двукратно иммунизированных мышей после введения токсинов *E. coli*

Группа	Угнетение	Профузный понос	Возбуждение	Нарушение координации движения	Судороги	Ослабление рефлексов
1 (КА+ЛПС)	+	–	–	–	–	–
2 (КА+ПАК)	+	–	–	–	–	–
3 (КА)	+	+	+	+	–	–
4 (интактные)	+	+	+	+	+	+

Результаты данного опыта отражены в таблице 33, из которой видно, что в 1-й и 2-й группе, где животные иммунизировались КА с ЛПС и ПАК, сохранность животных составила 100 %, в 3-й группе, где использовали КА без адъювантов, – 57,1 %.

Таблица 33 – Протективный эффект КА после двукратного введения при экспериментальном заражении белых мышей токсинами *E. coli*

Группа	Иммунизирующая доза, мл	Количество животных	Заражающая доза, мл	Результат	
				пало	протективный эффект, %
1 (КА+ЛПС)	0,1 + 0,1	7	0,129	0	100
2 (КА+ПАК)	0,1 + 0,1	7		0	100
3 (КА)	0,1 + 0,1	7		2	71,4
4 (интактные)	–	7		7	–

При исследовании сыворотки крови иммунизированных мышей из опытных групп на наличие у них антитоксических антител (таблица 34) было установлено, что у животных из 1-й, 2-й и 3-й групп их титр достигал значений 7,2, 6,8 и 4,8 $\log_2$ соответственно.

Таблица 34 – Титр антитоксических антител у мышей после двукратной иммунизации ($n = 7$, $M \pm m$)

Группа	Иммунизирующая доза, мл	Титр антитоксических антител через 7 дней после однократного введения препаратов, $\log_2$
1 (КА+ЛПС)	0,1 + 0,1	$7,8 \pm 0,4^*$
2 (КА+ПАК)	0,1 + 0,1	$7,2 \pm 0,3^*$
3 (КА)	0,1 + 0,1	$5,8 \pm 0,4$
4 (интактные)	–	–
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 3-й группе).		

Таким образом, результаты опыта показали, что протективный эффект анатоксина зависит от адъюванта, дозы и кратности иммунизации. Установлено, что однократная иммунизация не обеспечивает защиту животных. При этом повышение иммунизирующей дозы ведет к иммунобиологической толерантности. Между тем, использование КА с ЛПС и ПАК при двукратном введении в дозе 0,1 мл обеспечивает 100%-ю защиту белых мышей. У этих животных титр антитоксических антител достигал 7,2 и 6,8 $\log_2$ соответственно. После двукратной иммунизации мышей КА без адъювантов уровень специфических антитоксических антител достигал титра 4,8 $\log_2$. Это количество антител способно было обеспечить сохранность только 57,1 % зараженных животных [194; 195].

Следовательно, данный опыт показал, что для того чтобы животные были защищены от токсинов *E. coli* у них в сыворотке крови должны быть антитоксические антитела в концентрации не менее чем 6,0–7,0 $\log_2$.

3.6.3 Гуморальный иммунный ответ у супоросных свиноматок и стельных коров, иммунизированных колианатоксином с адъювантами

Ранее проведенные исследования на лабораторных биообъектах позволили установить кратность иммунизации колианатоксином, оптимальные со-

четания адъювантов, определить концентрацию защитных антител в крови у животных [194; 195]. На следующем этапе иммуногенные свойства колианатоксина с адъювантами изучали на продуктивных животных – крупном рогатом скоте и свиньях.

Наблюдения показали, что после вакцинации супоросных свиноматок заметных изменений их общего состояния не было. Температура тела оставалась в пределах физиологической нормы. На месте инъекции припухлостей, уплотнений, болезненности и повышения местной температуры не установлено.

Результаты исследований сыворотки крови показали (таблица 35), что через 7 дней после 1-й вакцинации у свиноматок во всех опытных группах идет активная выработка антитоксических антител, однако интенсивность их накопления различна.

Таблица 35 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови и молозиве свиноматок после иммунизации КА с адъювантами (n = 5, M ± m)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, log ₂		
		через 7 дней после первой вакцинации	через 7 дней после второй вакцинации	в молозиве на 1-й день после опороса
1 (КА+ЛПС)	3 + 3	6,0 ± 0,6*	6,6 ± 0,5*	7,6 ± 0,5*
2 (КА+ЛПС)	5 + 5	7,6 ± 0,5*	8,3 ± 0,5*	9,0 ± 0,8*
3 (КА+ЛПС)	3 + 5	6,3 ± 0,5*	7,6 ± 0,5*	8,3 ± 0,5*
4 (КА+ПАК)	3 + 3	6,6 ± 0,5*	7,6 ± 0,5*	8,3 ± 0,5*
5 (КА+ПАК)	5 + 5	7,3 ± 0,5*	8,0 ± 0,8*	8,6 ± 0,5*
6 (КА+ПАК)	3 + 5	6,6 ± 0,5*	7,3 ± 0,5*	8,0 ± 0,8*
7 (КА)	3 + 3	3,0 ± 0,8	4,0 ± 0,8	5,0 ± 0,8
8 (КА)	5 + 5	4,6 ± 0,5	5,6 ± 0,5	6,3 ± 0,5
9 (КА)	3 + 5	3,6 ± 0,5	4,3 ± 0,5	5,3 ± 0,5
10 (контроль)	–	1,3 ± 0,5	1,3 ± 0,5	2,6 ± 0,5
Примечание: * – P < 0,05 (статистическая достоверность различий по отношению к 7–9-й группам).				

Более высокие титры антител были выявлены у животных, иммунизированных КА с адъювантами. Так, если у свиноматок, иммунизированных только КА, титр антитоксических антител находился в пределах $3,0\text{--}4,6 \log_2$, то у свиноматок, иммунизированных КА с адъювантами, он составил $6,0\text{--}7,6 \log_2$. При этом было установлено, что не только доза КА, но и вид адъюванта влияет на интенсивность антителообразования. Наибольший титр антител был установлен у животных 2-й группы, которых иммунизировали КА с ЛПС в дозе 5 мл.

После 2-й вакцинации у животных всех опытных групп отметили дальнейшее увеличение антителообразования. В опытных группах, где животных иммунизировали КА с адъювантами, наиболее высокий титр антител был установлен у свиноматок 2-й и 5-й опытной группы – $8,3$ и $8,0 \log_2$ соответственно, а наименьший в 1-й – $6,6 \log_2$.

В группах, где анатоксин применялся без адъювантов, наиболее высокий титр антител ($5,6 \log_2$) выявили у свиноматок 8-й группы, которым КА вводили дважды в дозе 5 мл, а наименьший ($4,0 \log_2$) – в 7-й группе, где КА вводили дважды в дозе 3 мл. Характерно, что более выраженный иммунный ответ наблюдался у всех свиноматок, вакцинированных двукратно КА как с ЛПС, так и ПАК, при этом у них титр антител был в $1,5\text{--}1,7$ раз выше, чем у животных иммунизированных КА без адъювантов. Наиболее эффективной оказалась схема вакцинации, предусматривающая двукратное введение анатоксина в дозе 5 мл.

На следующем этапе исследований необходимо было выяснить, какое количество антитоксических антител содержится в молозиве свиноматок, так как именно от этого зависит ранняя защита новорожденных поросят от коли-инфекции.

Из материалов таблицы 35 видно, что на 1-й день в молозиве свиноматок антитела обнаруживаются как в опытных, так и в контрольных группах, количество которых было в $1,1\text{--}2$ раза больше, чем в сыворотке крови. Однако у иммунизированных свиноматок уровень антитоксических антител в молозиве в $1,9\text{--}3,5$ раз выше, чем у не иммунизированных. Вместе с тем самая высокая

концентрация антител против TL, TS, STX токсинов *E. coli* зафиксирована у свиноматок, иммунизированных двукратно в дозе 5 мл КА с ЛПС и КА с ПАК.

В группах, где свиноматки вакцинировались КА без адъювантов, молозивные титры антитоксических антител были в 1,4–1,5 раза ниже, чем в группах, где животных иммунизировали КА с адъювантами.

Полученные данные указывают, что между содержанием антител в сыворотке крови и молозиве иммунизированных свиноматок прослеживается прямая зависимость, чем выше их концентрация в сыворотке, тем больше их находится в молозиве.

Таким образом, нами было установлено, что КА в сочетании с ЛПС и ПАК значительно стимулирует образование антитоксических антител. При этом оптимальной для свиноматок можно считать схему иммунизации, включающую двукратное введение КА в дозе 5 мл.

Между тем важно было оценить не только иммунный ответ у иммунизированных свиноматок, но и уровень, и продолжительность циркуляции колостральных антител у потомства.

Анализ содержания колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных поросят, родившихся от иммунизированных свиноматок (опыт), и поросят, родившихся от не вакцинированных свиноматок (контроль), показал, что титр специфических сывороточных антител у потомства из опытных групп был значительно выше, чем у потомства из контрольной группы (таблица 36).

Таблица 36 – Титр колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных поросят, полученных от иммунизированных свиноматок
(n = 10, M ± m)

Группа	Доза препарата, мл	Титр колостральных антитоксических антител, log ₂		
		на 2-й день после рождения	на 5-й день после рождения	на 7-й день после рождения
1	2	3	4	5
1 (КА+ЛПС)	3 + 3	6,3 ± 0,5*	5,3 ± 0,5*	1,6 ± 0,5
2 (КА+ЛПС)	5 + 5	7,6 ± 0,5*	6,3 ± 0,6*	2,3 ± 0,5

Продолжение таблицы 36

1	2	3	4	5
3 (КА+ЛПС)	3 + 5	$6,6 \pm 0,5^*$	$5,6 \pm 0,9$	$2,3 \pm 0,5$
4 (КА+ПАК)	3 + 3	$6,6 \pm 0,5^*$	$5,6 \pm 0,5^*$	$1,6 \pm 0,5$
5 (КА+ПАК)	5 + 5	$7,3 \pm 0,5^*$	$6,3 \pm 0,5^*$	$2,3 \pm 0,5$
6 (КА+ПАК)	3 + 5	$6,6 \pm 0,5^*$	$5,3 \pm 0,9$	$1,6 \pm 0,5$
7 (КА)	3 + 3	$4,3 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,5$
8 (КА)	5 + 5	$5,0 \pm 0,8$	$2,6 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,5$
9 (КА)	3 + 5	$4,6 \pm 0,5$	$2,6 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,5$
10 (контроль)	—	$2,3 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,5$	$0,6 \pm 0,5$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 7–9-й группам).				

Исследованиями установлено, что максимальный титр колостральных антитоксических антител регистрируется у новорожденных на 2-й день после рождения. При этом наиболее высокое его значение отметили у поросят тех опытных групп, где анатоксин применялся в сочетании с адъювантами.

Титры антител в сыворотке крови поросят, получивших молозиво от свиноматок, иммунизированных КА с адъювантами, были в 1,5 раза выше, чем у поросят опытных групп, где свиноматок иммунизировали только КА, и в 3,2–3,3 раза выше, чем полученных от не иммунизированных свиноматок (рисунок 52).

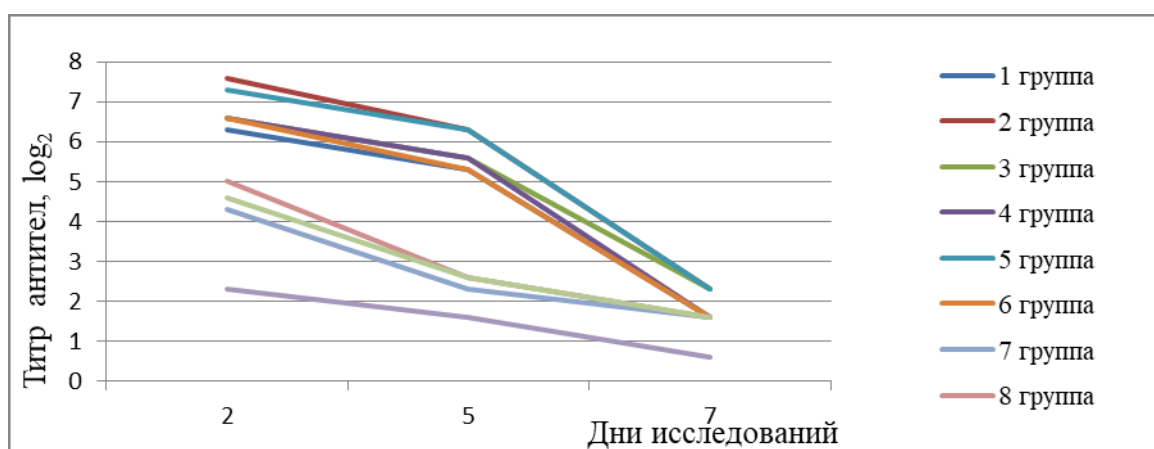


Рисунок 52 – Динамика циркуляции колостральных антитоксических антител у новорожденных поросят

Максимальное значение уровня колостральных антител наблюдали у поросят из 2-й и 5-й групп – 7,6 и 7,3 $\log_2$ соответственно, а минимальное значение из 1-й группы – 6,3 $\log_2$.

В группах, где анатоксин применялся без адъювантов, наибольший титр антител составил у поросят из 8-й группы – 5,0 $\log_2$.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой коррелятивной зависимости между содержанием специфических антитоксических антител в молозиве свиноматок и уровнем колостральных антител в сыворотке крови новорожденных поросят.

На 5-й день после рождения у поросят из всех опытных групп наблюдали снижение титра специфических антител в сыворотке крови, количество которых уменьшилось примерно в 1,5 раза по сравнению с предыдущим исследованием, но было все же существенно большим, чем у животных из контрольной группы и 7–9-й опытных групп. Так, у поросят из групп, где свиноматок иммунизировали анатоксином с адъювантами, титр колостральных антител был в пределах 6,3–5,3 $\log_2$, в то время как у поросят, полученных от свиноматок, которых иммунизировали КА без адъювантов – только 2,3–2,6 $\log_2$.

На 7-й день после рождения титры антител у всех новорожденных поросят из опытных групп практически сравнялись с таковыми в контроле, что свидетельствует о прекращении циркуляции колостральных антитоксических антител в организме новорожденных животных.

Следовательно, полученные данные указывают на то, что у поросят, полученных от свиноматок, иммунизированных КА с адъювантами, в течение первых 2–3 сут после рождения формируется выраженный колостральный иммунитет, обеспечивающий их защиту от токсинов *E. coli*. Однако к 5-му дню достаточный для защиты уровень антитоксических антител выявлен только у поросят, матери которых иммунизировались КА с ЛПС и ПАК дважды в дозе 5 мл. Однако и у этих животных практически полное истощение колострального иммунитета происходило к 7-м суткам.

Таким образом, обобщая полученные данные, нами было установлено, что КА в значительной мере стимулирует гуморальное звено иммунитета у супоросных свиноматок. Введение в анатоксин ЛПС и ПАК в качестве адъювантов способствует усилению иммунного ответа, выражающегося активной выработкой специфических антител. При этом оптимальной иммунизирующей дозой для свиноматок можно считать 5 мл. Двукратное введение свиноматкам КА в сочетании с адъювантами в дозе 5 мл приводило к выработке у них антитоксических антител, концентрация которых в сыворотке крови на 9,2–33,3 % была выше по сравнению с однократным введением и в 1,5–2 раза выше по сравнению с двукратным введением только КА. Тот уровень антител, который накапливается в молозиве свиноматок, двукратно иммунизированных в дозе 5 мл КА с ЛПС и ПАК, может обеспечивать защиту новорожденных поросят в течение первых пяти дней после рождения. В последующем колостральный иммунитет в отношении токсинов *E. coli* истощается, что предусматривает стимуляцию активного иммунитета посредством иммунизации поросят [194; 195; 208].

При изучении иммуногенности КА с адъювантами для крупного рогатого скота наблюдения показали, что у иммунизированных коров изменений общего состояния не было. Температура тела оставалась в пределах физиологической нормы. На месте инъекции припухлостей, уплотнений, болезненности и повышения местной температуры не установлено. Абортов и заболеваний молочной железы также не установлено.

Результаты исследований показали (таблица 37), что через 7 дней после первого введения КА у коров из всех опытных групп титр антитоксических антител в сыворотке крови значительно выше, чем у интактных коров. Однако в опытных группах уровень антител также был различным. Более высокие титры антител установлены у животных, иммунизированных КА с адъювантами. Так, если у коров, иммунизированных только КА, титр антитоксических антител находился в пределах $5,2-6,2 \log_2$, то у коров иммунизированных КА с адъювантами он составил $6,2-7,2 \log_2$. При этом отмечено, что не только доза КА, но и вид адъюванта влияет на интенсивность антителообразования. Наиболь-

ший титр антител был зафиксирован у коров, иммунизированных КА с ЛПС, у которых титр антител находился в пределах $6,4-7,2 \log_2$, тогда как после иммунизации КА с ПАК в аналогичных дозах – $6,2-6,8 \log_2$.

Таблица 37 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови и молозиве коров после иммунизации КА с адъювантами
($n = 5, M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, $\log_2$		
		через 7 дней после 1-й иммунизации	через 7 дней после 2-й иммунизации	молозиво на 1-й день после отела
1 (КА+ЛПС)	3+5	$6,4 \pm 0,5$	$7,2 \pm 0,7$	$8,2 \pm 0,4^*$
2 (КА+ЛПС)	5+5	$7,0 \pm 0,6$	$7,6 \pm 0,5$	$8,4 \pm 0,5^*$
3 (КА+ЛПС)	5+10	$7,2 \pm 0,4$	$8,0 \pm 0,6$	$8,8 \pm 0,4^*$
4 (КА+ПАК)	3+5	$6,2 \pm 0,7$	$7,2 \pm 0,4$	$7,8 \pm 0,4$
5 (КА+ПАК)	5+5	$6,6 \pm 0,8$	$7,4 \pm 0,5$	$8,2 \pm 0,4^*$
6 (КА+ПАК)	5+10	$6,8 \pm 0,4$	$7,8 \pm 0,4$	$8,6 \pm 0,4^*$
7 (КА)	3+5	$5,2 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,4$	$6,4 \pm 0,5$
8 (КА)	5+5	$6,0 \pm 0,6$	$6,6 \pm 0,5$	$6,8 \pm 0,4$
9 (КА)	5+10	$6,2 \pm 0,4$	$6,8 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,4$
10 (контроль)	-	$3,4 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,4$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 7–9-й группам).				

После второго введения КА у животных всех опытных групп отметили дальнейшее нарастание титра антител. Наиболее высоким он был у коров из 3-й и 6-й опытных групп – $8,0$ и $7,8 \log_2$ соответственно, а наименьшим из 1-й и 4-й – $7,2$ и $7,2 \log_2$.

В группах, где анатоксин применялся без адъювантов, более высокое значение титра антител ($6,8 \log_2$) выявили у коров из 9-й группы, а наименьшее ($6,4 \log_2$) – из 7-й группы. Характерно, что у стельных коров, иммунизированных двукратно КА как с ЛПС, так и с ПАК, титр сывороточных антитоксических антител был в 1,2 раза выше, чем у животных иммунизированных КА без

адьювантов. Наиболее эффективной оказалась схема иммунизации, предусматривающая двукратное введение анатоксина в дозе 5 и 10 мл. В этом случае титр антител в сыворотке крови коров был на 5,3–8,3 % выше, чем при иммунизации животных по схеме 3 + 5 мл и 5 + 5 мл. Использование КА в сочетании с ЛПС способствовало выработке специфических антитоксических антител в большей степени, чем при использовании КА с ПАК.

Следует отметить, что к моменту рождения теленка в сыворотке крови у всех коров из опытных групп наблюдали максимальное накопление специфических антител. Результаты исследований ряда авторов [38, 58] установлено, что защитные антитела против возбудителей колибактериоза не передаются внутриутробно от коров-матерей к плоду. Это объясняется тем, что плацента коров является непроницаемой для передачи материнских антител к плоду. Поэтому единственным фактором защиты новорожденных телят от инфекций является колостральный иммунитет за счет специфических иммуноглобулинов, содержащихся в молозиве.

Следовательно, на следующем этапе исследований нам необходимо было выяснить, какое количество антитоксических антител содержится в молозиве иммунизированных коров.

Результаты этих исследований также отражены в таблице 37, из материалов которой видно, что на 1-й день в молозиве всех коров содержатся антитоксические антитела, количество которых в 1,1–1,3 раза больше, чем в сыворотке крови. Вместе с тем, у коров, иммунизированных КА с ЛПС и ПАК уровень антитоксических антител в молозиве в 1,2 раза выше, чем у иммунизированных КА без адьювантов и 1,8–2,1 раза выше, чем у животных из контрольной группы. При этом самая высокая концентрация молозивных антител против TL, TS, STX токсинов *E. coli* зафиксирована у коров из 3-й (8,8 log₂) и 6-й (8,4 log₂) опытных групп, которых иммунизировали колианатоксином с ЛПС и ПАК двукратно в дозе 5 и 10 мл.

Таким образом, было установлено, что КА в сочетании с адьювантами в должной мере стимулирует образование антитоксических антител. Оптималь-

ной для стельных коров можно считать схему, при которой осуществлялась двукратная иммунизация животных в дозах 5 и 10 мл.

Между тем важно было оценить не только уровень специфических антител у вакцинированных коров, но и продолжительность нахождения колостральных антител у телят.

Все телята из опытных и контрольных групп своевременно в течение первых двух часов после рождения получали молозиво от своих матерей и содержались в одинаковых условиях.

Сравнительный анализ уровня колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных телят, родившихся от иммунизированных (опыт) и неиммунизированных коров (контроль), показал, что титр специфических антител у потомства из опытных групп был значительно выше, чем у потомства из контрольной группы (таблица 38).

Таблица 38 – Титр колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных телят, полученных от иммунизированных коров ($n = 5$, $M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, $\log_2$		
		на 2-й день после рождения	на 7-й день после рождения	на 14-й день после рождения
1 (КА+ЛПС)	3 + 5	$5,4 \pm 0,5^*$	$4,8 \pm 0,4^*$	$3,6 \pm 0,5$
2 (КА+ЛПС)	5 + 5	$6,2 \pm 0,4^*$	$4,8 \pm 0,9$	$3,8 \pm 0,3^*$
3 (КА+ЛПС)	5 + 10	$6,8 \pm 0,4^*$	$6,0 \pm 0,6^*$	$4,6 \pm 0,5^*$
4 (КА+ПАК)	3 + 5	$5,2 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,5$	$3,4 \pm 0,5$
5 (КА+ПАК)	5 + 5	$5,8 \pm 0,4^*$	$5,2 \pm 0,4^*$	$3,4 \pm 0,8$
6 (КА+ПАК)	5 + 10	$6,6 \pm 0,5^*$	$5,8 \pm 0,4^*$	$4,2 \pm 0,4^*$
7 (КА)	3 + 5	$3,8 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,8$
8 (КА)	5 + 5	$4,2 \pm 0,4$	$3,4 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,5$
9 (КА)	5 + 10	$4,4 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,5$
10 (контроль)	—	$3,8 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,5$	$1,4 \pm 0,5$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 7–9-й группам).				

При этом у телят максимальное значение титра колостральных антитоксических антител регистрировалось на 2-й день после рождения. Более высокое его значение выявили у телят, полученных от коров, которых иммунизировали анатоксином с адъювантами. Титры антител в сыворотке крови телят, получивших молозиво от коров, иммунизированных КА с адъювантами, были в 1,4–1,5 раза выше, чем у животных из опытных групп, матери которых иммунизировались КА без адъювантов и в 1,4–1,8 раз выше, чем у телят, полученных от не иммунизированных коров. Максимальное значение уровня колостральных антител наблюдали у телят из 3-й и 6-й групп – 6,8 и 6,6 $\log_2$ соответственно, а минимальное значение у телят из 4-й группы – 5,2 $\log_2$. В группах, где анатоксин применялся без адъювантов, наибольший титр антител был у телят из 9-й группы, где он составил – 4,4 $\log_2$.

На 7-й день после рождения у телят во всех опытных группах наблюдали снижение титра антител (рисунок 51). Количество антител уменьшилось примерно на 15,8–22,6 % по сравнению с предыдущими исследованиями, но было все же большим, чем у животных в контроле. Так, в группах, где анатоксин применялся с адъювантами, титр колостральных антител у телят был в пределах 4,4–6,0 $\log_2$. В группах, где анатоксин применяли без адъювантов, титры специфических антител были в пределах 3,2–3,8 $\log_2$.

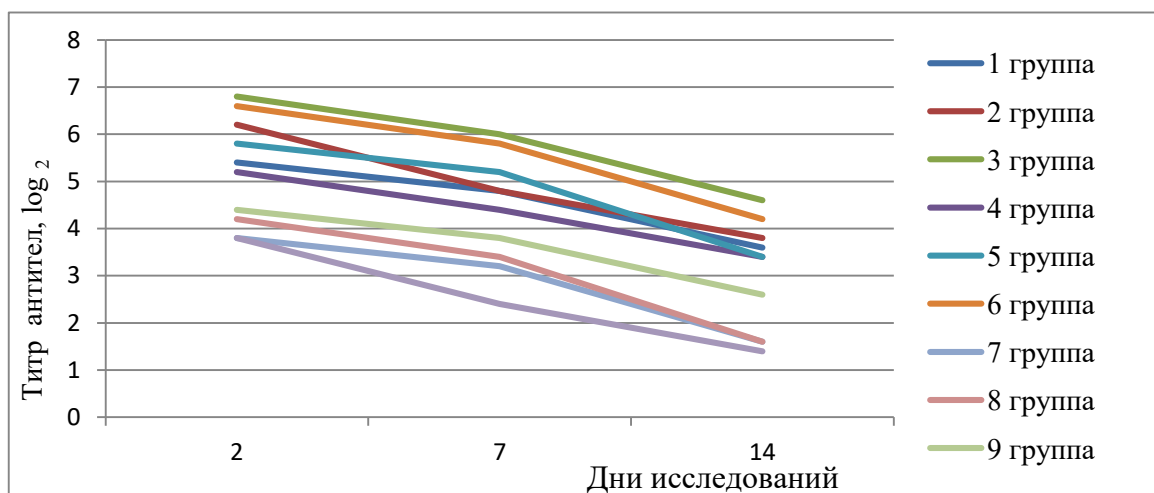


Рисунок 53 – Динамика циркуляции колостральных антитоксических антител у новорожденных телят

На 14-й день исследований титры антител у новорожденных телят в группах, где анатоксин применяли с адъювантами, снизились еще в 1,3–2 раза по сравнению со значениями 7-го дня. При этом максимальный уровень колостральных антител был у телят из 3-й и 6-й групп и составлял 4,6 и 4,2 $\log_2$ соответственно. В 7-й, 8-й и 9-й группах значения титров антител находились в пределах 1,6–2,6 $\log_2$, что свидетельствует об их практическом расходовании.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что при иммунизации стельных коров КА, происходит более активная стимуляция гуморального звена иммунитета, чем у свиноматок. Введение в анатоксин адъювантов способствует значительному усилению иммунного ответа, однако полученные значения были сопоставимы со значениями титра антител у свиноматок. Двукратное введение коровам КА с ЛПС и ПАК способствовало увеличению на 9,7–19,2 % титра антитоксических антител в сыворотке крови по сравнению с однократным введением. При этом наиболее продуктивной оказалась схема иммунизации, предусматривающая двукратное введение анатоксина в дозе 5 и 10 мл, в этом случае титр антител повышался на 5,3–8,3 % по сравнению с использованием КА в других дозах. Лучшие адъювантные свойства в случае применения с КА были отмечены у ЛПС. Иммунизация стельных коров КА с адъювантами приводила к формированию у потомства более выраженного колострального иммунитета, чем у телят, полученных от коров, иммунизированных КА без адъювантов. Двукратное введение глубокостельным коровам КА с ЛПС и ПАК в дозах 5 и 10 мл обеспечивает достаточно высокий уровень колостральных антител у телят и может обеспечить их защиту от токсинов *E. coli* не более 7 дней [178; 194; 195; 208].

3.7 Повышение иммуногенности колианатоксина с помощью адъювантных композиций

Проведенные исследования по изучению иммуногенных свойств колианатоксина с различными адъювантами показали, что при двукратной иммуниза-

ции супоросных свиноматок и стельных коров, уровень защитных колостральных антител у полученных от них поросят и телят сохраняется в течение 5 и 7 дней соответственно [178; 194; 195]. Следовательно, исследования по повышению иммуногенности колианатоксина и пролонгации его защитного действия при эшерихиозной инфекции остаются актуальными.

Перспективным способом создания эффективного иммунобиологического препарата на основе инаktivированных токсинов кишечной палочки является их совместное использование вместе с бактериальными липополисахаридами и химическими полимерами, а также с минерально-масляной композицией, обладающие способностью повышать иммуногенность растворимых антигенов, которыми являются инаktivированные токсины *E. coli* [99; 134; 164; 165; 237; 267; 268; 275; 364; 393]. В связи с этим, следующим этапом наших исследований было изучение влияния различных адъювантных сочетаний на иммуногенные свойства колианатоксина для специфической профилактики энтеротоксигенного эшерихиоза у телят и поросят.

3.7.1 Разработка иммунобиологического препарата на основе колианатоксина, бактериального липополисахарида и полиакриловой кислоты, его иммуногенные свойства и профилактическая эффективность

Первоначальные этапы получения иммунобиологического препарата на основе Колианатоксина-ЛПС+ПАК описаны в разделе 3.5.2 настоящей диссертации. Далее, на этапе стерилизующей фильтрации, когда отделили микробную массу от среды культивирования, в бесклеточную культуральную среду *E. coli* вносили адъюванты: фармацевтический препарат пирогенал (липпополисахарид, выделенный из микробных клеток *Salmonella typhi*, производитель ФГБУ НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи Минздрава России) в 0,01%-й концентрации (раствор для внутримышечного введения, 1 мл которого содержит 100 мкг

действующего вещества) и 3%-й водный раствор полиакриловой кислоты (производство ООО Химдирект сервис, Москва) при следующем соотношении компонентов, мас. %:

пирогенал в 0,01%-й концентрации	9–11
3%-й водный раствор полиакриловой кислоты	9–11
колианатоксин	до 100.

Эффективность Колианатоксина-ЛПС+ПАК против эшерихиоза зависит от свойств подобранных *E. coli*, последовательности приготовления и процентного соотношения компонентов, входящих в ее состав.

Количественные значения ввода адъювантов были подобраны экспериментальным путем, при этом учитывалась иммуногенная активность Колианатоксина-ЛПС+ПАК. При вводе пирогенала и полиакриловой кислоты в объеме 8 % иммуногенная активность повышалась, но все же была не достаточной для длительного сохранения поствакцинального иммунитета. При вводе адъювантов в объеме 12 %, увеличения продукции специфических антител более значения, чем при их вводе в объеме 9–11 %, не происходило, а экономические затраты возрастали. Кроме того, вслед за повышением ввода полиакриловой кислоты возрастала опасность развития местной воспалительной реакции из-за раздражения тканей.

Полученную вакцину фасовали по 100 мл в стерильные флаконы, укупоривали и проверяли на стерильность и безвредность. По внешнему виду готовая вакцина представляла собой прозрачную жидкость светло-соломенного цвета без осадка и посторонних примесей. Срок хранения в сухом и темном помещении при температуре 4–10 °С – 1 год.

Полученный иммунобиологический препарат проверяли на стерильность и безвредность.

При контрольных посевах Колианатоксина-ЛПС+ПАК на МПА, МПБ, среду Китта-Тароцци, Сабуро, Эндо рост бактериальной и грибной флоры отсутствовал, что свидетельствовало о стерильности препарата.

При внутрибрюшинном введении Колианатоксина-ЛПС+ПАК в дозе 0,3 мл белым мышам массой 20–22 г угнетения и гибели их в течение 10 дней не отмечали, что является показателем безвредности препарата.

Для изучения иммуногенных свойств колианатоксина в сочетании с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой было сформировано четыре группы белых крыс по 6 гол. в каждой, которым внутримышечно двукратно инъецировали по 0,15 мл препарата, в первой группе использовали колианатоксин без адъюванта (КА), во второй – колианатоксин с пирогеналом (КА+ЛПС), в третьей – колианатоксин с полиакриловой кислотой (КА+ПАК), в четвертой – колианатоксин с пирогеналом и полиакриловой кислотой (КА+ЛПС+ПАК). Спустя 7, 14, 21, 60, 90 и 120 дней в реакции непрямой гемагглютинации определяли титр антител к токсинам *E. coli* результаты опыта отражены в таблице 39.

Таблица 39 – Титр специфических антител в сыворотке крови крыс после двукратного введения эшерихиозного анатоксина с адъювантами (n = 10, M ± m)

Группа	Титр антител по дням после введения препаратов, log ₂					
	7	14	21	60	90	120
1 (КА)	3,6 ± 0,5	3,2 ± 0,7	2,8 ± 0,7	2,0 ± 0,6	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,7
2 (КА+ЛПС)	8,2 ± 0,7*	6,0 ± 0,6*	5,4 ± 0,5*	5,0 ± 0,4*	3,8 ± 0,7*	2,0 ± 0,6
3 (КА+ПАК)	7,6 ± 0,6*	5,8 ± 0,7*	5,2 ± 0,4*	4,6 ± 0,5	3,6 ± 0,6*	1,8 ± 0,7
4 (КА+ЛПС+ПАК)	8,8 ± 0,5*	7,8 ± 0,4*	7,6 ± 0,7*	6,4 ± 0,5	5,6 ± 0,5*	3,6 ± 0,4
Примечание: * – P < 0,05 (статистическая достоверность различий по отношению к 1-й группе).						

Из данных таблицы 39 видно, что у животных всех групп после ввода им анатоксина в течение 7 дней вырабатываются антитела. Однако, в 2-й и 3-й группах, где он вводился с адъювантами, уровень антител был в 1,7 раза выше, чем у животных, которым анатоксин вводился без пирогенала и полиакриловой кислоты, а у животных 4-й группы уровень антител был в 2 раза более высоким.

В последующие дни у животных 1-й группы уровень антител снижался, а вот у животных 2-й, 3-й и 4-й групп он повышался до 14 дня, превысив показатели 1-й группы в 1,9, 1,8 и 2,4 раза соответственно.

В последующем во всех группах установили постепенное снижение антител к 120 дню до значения $1,2 \pm 0,7$; $2,0 \pm 0,6$; $1,8 \pm 0,7$ и $3,6 \pm 0,4 \log_2$ соответственно. У животных 4-й группы уровень антитоксических антител оставался самым высоким даже спустя 60 дней после иммунизации и был достаточным для защитного действия от токсинов *E. coli* [2; 11; 118; 119].

Изучение иммуногенных свойств колианатоксина под влиянием ЛПС и ПАК на крупном рогатом скоте проводили в скотоводческом хозяйстве Краснодарского края. Было сформировано пять групп стельных коров по 25 гол. в каждой. Всех животных иммунизировали препаратами двукратно, 1-й раз за 30 дней до отёла и 2-й раз за 15 дней до отёла. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Первую группу коров (1-я опытная) иммунизировали анатоксином с адъювантным комплексом в дозе 3 и 5 см³. Вторую группу коров (2-я опытная) иммунизировали КА с ЛПС+ПАК двукратно в дозе 5 см³. Третью группу животных (3-я опытная) вакцинировали в дозах 5 и 10 см³. Четвертую группу коров (1-й контроль) иммунизировали анатоксином с пирогеналом по схеме и в дозах аналогичных в 3-й группе. Пятую группу коров (2-й контроль) иммунизировали анатоксином с полиакриловой кислотой по схеме и в дозах аналогичных в 3-й и 4-й группах.

Эффективность вакцин оценивали по степени нарастания антитоксических антител у стельных коров и полученных от них телят на 2-е и 7-е сутки после рождения. Сыворотку крови для определения наличия антитоксических антител исследовали в реакции непрямой гемагглютинации.

Влияние применения анатоксин-вакцин на титр антител у телят представлены в таблице 40, из которой видно, что иммунизация коров и телят анатоксин вакциной и комплексом адъювантов обеспечивает более напряженный и продолжительный специфический иммунитет против эшерихиозной инфекции. При этом доза препарата и кратность введения имела решающее значение.

Использование КА с ЛПС+ПАК у животных в 1-й опытной группе после первой иммунизации стимулировало образование антител у коров, однако значение титра защитных клеток был самым низким из опытных и контрольных групп ($6,4 \log_2$). У коров в 2-й и 3-й опытных группах титр антител находился на уровне $7,2 \log_2$ и $7,8 \log_2$ соответственно.

Таблица 40 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови коров и полученных от них телят после иммунизации КА с адьювантами ($n = 25$, $M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, $\log_2$			
		через 7 дней после 1-й иммунизации	через 7 дней после 2-й иммунизации	телята на 2-й день после рождения	телята на 7-й день после рождения
1 (КА+ЛПС+ПАК)	3 + 5	$6,40 \pm 0,35$	$7,20 \pm 0,14$	$8,40 \pm 0,17^*$	$6,40 \pm 0,14^*$
2 (КА+ЛПС+ПАК)	5 + 5	$7,20 \pm 0,26$	$7,60 \pm 0,23$	$8,60 \pm 0,15^*$	$6,60 \pm 0,13^*$
3 (КА+ЛПС+ПАК)	5 + 10	$7,80 \pm 0,09^*$	$8,80 \pm 0,11^*$	$9,40 \pm 0,12^*$	$7,40 \pm 0,12^*$
4 (КА+ЛПС)	5 + 10	$7,40 \pm 0,14$	$8,20 \pm 0,24$	$6,60 \pm 0,18$	$5,80 \pm 0,12$
5 (КА+ПАК)	5 + 10	$7,10 \pm 0,21$	$7,60 \pm 0,14$	$6,40 \pm 0,23$	$5,50 \pm 0,11$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).					

Двукратная иммунизация способствовала увеличению защитных клеток в опытных и контрольных группах. Максимальное значение титра антител отмечали у животных в 3-й опытной группе – $8,8 \log_2$. У коров 1-й и 2-й опытных групп эти значения находились в пределах $7,2$ – $7,6 \log_2$. Таким образом, КА с ЛПС+ПАК сильнее стимулировал выработку антител у стельных коров, при этом оптимальной дозой можно считать $5 + 10$ мл при двукратной иммунизации.

В свою очередь, у телят в опытных группах на 2-й день после рождения титр антител оставался достаточно высоким и превышал значения контрольных

групп. КА с ЛПС+ПАК обеспечивал уровень антител с $8,4 \log_2$ до $9,4 \log_2$, что 1,3–1,4 раза, чем у телят из 4-й и 5-й групп.

Через 7 дней после рождения у телят в 1-й и 2-й опытных группах титр антител снизился до $6,4 \log_2$ и $6,6 \log_2$ соответственно (рисунок 54). Максимальное количество защитных клеток было у животных 3-й опытной группы – $7,4 \log_2$.

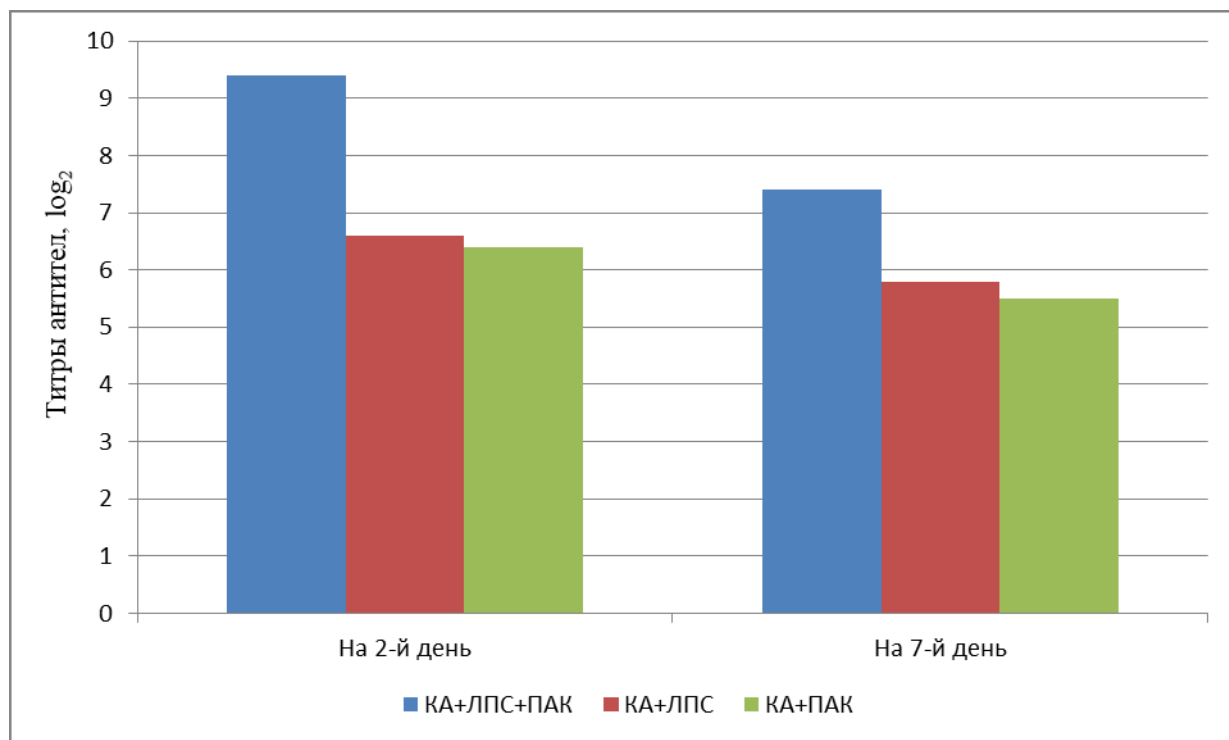


Рисунок 54 – Динамика накопления колостральных антител у телят

Таким образом, КА с ЛПС+ПАК при двукратной иммунизации стельных коров в дозе 5 + 10 мл обеспечивает защиту телят от эшерихиозной инфекции в течение 7 дней после рождения [118; 119; 122; 141; 201; 210; 219; 222].

При изучении применения Колианатоксина-ЛПС+ПАК в свиноводческом хозяйстве, сформировали пять групп супоросных свиноматок по пять животных в каждой, которых двукратно иммунизировали испытуемыми препаратами первый раз за 30 дней до опороса, второй раз – за 20 дней внутримышечно в область основания ушной раковины. В первой группе свиноматок иммунизировали анатоксином с адъювантным комплексом (1-я опытная) в дозе 3 мл. Жи-

вотных второй группы (2-я опытная) вакцинировали КА с ЛПС+ПАК двукратно в дозе 3 + 5 мл. Третью группу свиноматок (3-я опытная) иммунизировали анатоксином с адьювантным комплексом в дозах 5 + 5 мл. Четвертую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали колианатоксином с ЛПС (1-й положительный контроль) в дозах 5 + 5 мл. Пятая группа свиноматок иммунизировалась колианатоксином с ПАК (2-й положительный контроль) в дозах 5 + 5 мл. Сыворотку крови для определения наличия антитоксических антител проводили в реакции непрямой гемагглютинации, которую отбирали через 7 дней после последней их вакцинации, также определяли наличие молозивных антител. У полученных от вакцинированных свиноматок поросят сыворотку крови исследовали на 2-й, 7-й и 14-й день после рождения.

При изучении иммуногенной активности КА с ЛПС+ПАК установили, что при однократной вакцинации супоросных свиноматок титр антител был в пределах $7,0 \log_2$ в 1-й опытной группе – $7,6 \log_2$ в 3-й опытной группе (таблица 41). После второй иммунизации у животных в 1-й группе титр антител повысился относительно предыдущего значения, но оставался ниже контрольных показателей. У свиноматок 2-й и 3-й опытных групп количество иммуноглобулинов стало в пределах $8,3 \log_2$ и $8,6 \log_2$ соответственно. В молозиве у свиноматок уровень антитоксических антител высоким. Так, животных опытных групп они составляли $8,6 \log_2$, $9,2 \log_2$ и $9,8 \log_2$ соответственно, при контрольных значениях $8,6 \log_2$ и $8,8 \log_2$. Таким образом, двукратная иммунизация свиноматок КА с ЛПС+ПАК в дозе 5 мл была предпочтительней и стимулировала образование максимального количества антител.

У родившихся поросят в опытных группах на 2-й день титр антител сохранялся в пределах $7,7$ – $8,6 \log_2$, в контрольных группах – $7,2$ – $7,5 \log_2$ (таблица 42 и рисунок 55). На 7-й день количество защитных клеток снизилось до $5,3$ – $7,2 \log_2$, но эти значения оставались выше, чем у животных 4-й и 5-й групп. На 14-й день у поросят 1-й и 2-й опытных групп произошло снижение уровня колострального иммунитета до $4,2 \log_2$ и $5,4 \log_2$ соответственно. У животных

3-й опытной группы также наблюдали снижение антител, но их уровень был самым высоким среди всех испытуемых – $6,3 \log_2$. У поросят в контрольных группах содержание защитных клеток снизилось до $1,3 \log_2$.

Таблица 41 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови и молозиве свиноматок после иммунизации КА с адьювантами ($n = 25$, $M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, $\log_2$		
		через 7 дней после 1-й вакцинации	через 7 дней после 2-й вакцинации	в молозиве на 1-й день после опороса
1 (КА+ЛПС+ПАК)	3 + 3	$7,00 \pm 0,18$	$7,60 \pm 0,15$	$8,60 \pm 0,06$
2 (КА+ЛПС+ПАК)	3 + 5	$7,10 \pm 0,15$	$8,30 \pm 0,16$	$9,20 \pm 0,08^*$
3 (КА+ЛПС+ПАК)	5 + 5	$7,60 \pm 0,04^*$	$8,60 \pm 0,07^*$	$9,80 \pm 0,07^*$
4 (КА+ЛПС)	5 + 5	$7,30 \pm 0,12$	$8,30 \pm 0,07$	$8,80 \pm 0,18$
5 (КА+ПАК)	5 + 5	$7,20 \pm 0,13$	$8,00 \pm 0,12$	$8,60 \pm 0,15$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).				

Таблица 42 – Титр колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных поросят, полученных от иммунизированных свиноматок ($n = 10$, $M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр колостральных антитоксических антител, $\log_2$		
		на 2-й день после рождения	на 7-й день после рождения	на 14-й день после рождения
1 (КА+ЛПС+ПАК)	3 + 3	$7,70 \pm 0,23$	$5,30 \pm 0,25^*$	$4,20 \pm 0,15^*$
2 (КА+ЛПС+ПАК)	3 + 5	$8,20 \pm 0,11^*$	$6,30 \pm 0,19^*$	$5,40 \pm 0,18^*$
3 (КА+ЛПС+ПАК)	5 + 5	$8,60 \pm 0,15^*$	$7,20 \pm 0,29^*$	$6,30 \pm 0,17^*$
4 (КА+ЛПС)	5 + 5	$7,50 \pm 0,25$	$2,10 \pm 0,24$	$1,30 \pm 0,23$
5 (КА+ПАК)	5 + 5	$7,20 \pm 0,15$	$1,90 \pm 0,25$	$1,30 \pm 0,25$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).				

Таким образом, двукратная вакцинация супоросных свиноматок колианатоксином с адьювантным комплексом в виде пирогенала и полиакриловой кислоты в дозе 5 мл обеспечивает максимальное накопление антитоксических антител в сыворотке крови и молозиве. В свою очередь, у поросят количество колостральных антител сохранялся в защитных титрах до 14 дней.

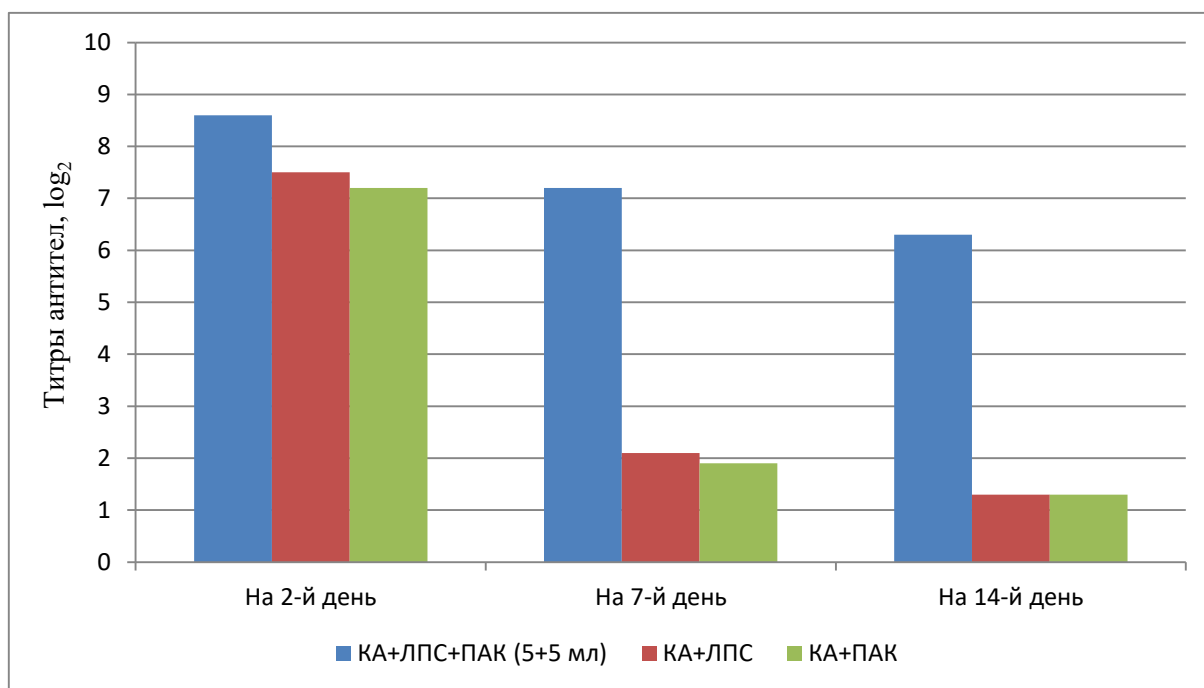


Рисунок 55 – Динамика накопления колостральных антител у поросят

В результате этих исследований нами было установлено, что для профилактики эшерихиоза у новорожденных поросят разработанной выше профилактической схемы может быть достаточной. Однако для профилактики отечной болезни необходимо было провести дополнительные исследования по применению колианатоксина с ЛПС+ПАК в схемах, включающих вакцинацию беременных животных и двукратную иммунизацию народившегося поголовья.

Для этого из поросят, полученных от двукратно иммунизированных свиноматок КА с ЛПС+ПАК в дозе 5 мл, сформировали три группы. Первой группе животных вводили КА с ЛПС+ПАК в дозах 0,25 + 0,5 мл, второй – 0,5 + 0,5 мл, третьей – 0,5 + 1 мл. Вакцинацию поросят осуществляли на 14-й день после их рождения на стадии расходования колостральных антител.

В результате установили, что иммунизация поросят в дозе 0,25 мл способствует накоплению антител до значения $7,2 \log_2$ (таблица 43). При введении 0,5 мл (2-я и 3-я группа) количество иммуноглобулинов стало $7,8-7,6 \log_2$ соответственно. Однако после второй иммунизации дозами 0,5 мл (1-я и 2-я группа) и 1 мл (3-я группа) титр антител увеличился до $9,2 \log_2$, $8,2 \log_2$ и $7,8 \log_2$ соответственно.

Таблица 43 – Титр антител в сыворотке крови у поросят, иммунизированных различными дозами КА с ЛПС+ПАК ($n = 10$, $M \pm m$)

Группа	Доза препарата, мл	Титр антитоксических антител, $\log_2$				
		на 7-й день после 1-й вакцинации	на 7-й день после 2-й вакцинации	на 14-й день после 2-й вакцинации	на 28-й день после 2-й вакцинации	на 56-й день после 2-й вакцинации
1 (КА+ЛПС+ПАК)	0,25 + 5	7,20 $\pm 0,15$	9,20 $\pm 0,12^*$	8,60 $\pm 0,17^*$	7,40 $\pm 0,12^*$	5,80 $\pm 0,13^*$
2 (КА+ЛПС+ПАК)	0,5 + 0,5	7,80 $\pm 0,12$	8,20 $\pm 0,19^*$	7,20 $\pm 0,16$	6,20 $\pm 0,21$	4,80 $\pm 0,18$
3 (КА+ЛПС+ПАК)	0,5 + 1	7,60 $\pm 0,13$	7,80 $\pm 0,17$	6,80 $\pm 0,25^*$	5,60 $\pm 0,15^*$	4,20 $\pm 0,16$
Примечание: * – $P < 0,05$.						

Через 14 дней у поросят вакцинированных дозами 0,25 + 0,5 мл количество защитных клеток был максимальным – $8,6 \log_2$, при значениях в других группах (2-й и 3-й) – $7,2 \log_2$ и $6,8 \log_2$.

Через 28 и 56 дней количество антител снизилось: в 1-й группе – до $7,4 \log_2$ и $5,8 \log_2$, во 2-й группе – до $6,2 \log_2$ и $4,8 \log_2$, в 3-й группе – до $5,6 \log_2$ и $4,2 \log_2$ соответственно.

Таким образом, для профилактики отечной болезни у поросят следует их вакцинировать КА с ЛПС+ПАК через 14 дней после рождения в дозе 0,25 мл

и ревакцинировать дозой 0,5 мл через 7 дней. При этом титр защитных антител сохраняется в течение 28 дней [118; 119; 121; 141; 201; 210; 219; 222].

Для изучения профилактической эффективности колианатоксина с ЛПС и ПАК на крупном рогатом скоте в хозяйстве Краснодарского края, неблагополучном по эшерихиозу телят, провели производственное испытание иммунобиологического препарата. По данным ветеринарной лаборатории диарею у молодняка крупного рогатого скота в данном хозяйстве вызывают патогенные штаммы кишечной палочки. Эффективность вакцины, изготовленной по заявляемому способу, сравнивали с эффективностью прототипа, для этого было сформировано три группы стельных коров по 25 гол. в каждой.

Первую группу коров иммунизировали КА с ЛПС+ПАК первый раз за 30 дней до отёла в дозе 5 мл, второй раз за 15 дней до отёла в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Вторую группу коров иммунизировали вакциной Коливак в дозах согласно наставлению. Третья группа коров была контрольной, они не иммунизировались. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их в другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и летальности.

Результаты исследований по профилактической эффективности анатоксинов у крупного рогатого скота отражены в таблице 44, из материалов которой видно, что в первой группе эшерихиозная инфекция была зарегистрирована у двух телят, при этом диарею у них удалось купировать в течение 3 дней, а на 5-й день телята полностью выздоровели.

Таким образом, профилактическая эффективность КА с ЛПС+ПАК составила 92 %. Во 2-й группе эшерихиозная инфекция была зарегистрирована у пяти телят, причем у двух особей она протекала очень тяжело и закончилась гибелью животных. Профилактическая эффективность Коливака составила 80 %. В контрольной группе из 25 телят заболело 10 животных, из которых четыре пали. Таким образом, в 3-й группе заболеваемость и летальность составила 40 %, что свидетельствует о значительной тяжести болезни.

Таблица 44 – Сравнительная эффективность использования анатоксинов при эшерихиозе у телят

Группа	Кол-во телят в группе	Заболело, гол. / Заболееваемость, %	Защита (эффективность), %	Пало, гол.	Летальность, %	Сохранность, %
1 (КА+ЛПС+ПАК)	25	2 / 8	92	0	0	100
2 (Коливак)	25	5 / 20	80	2	40,0	92
3 (интактные)	25	10 / 40	–	4	40,0	84

Следовательно, применение анатоксина с адъювантным комплексом позволило более эффективно профилактировать заболевание телят эшерихиозной инфекцией. Заболеваемость телят привитых заявляемой вакциной составила 8 %, а сохранность 100 %, тогда как при использовании Коливака заболеваемость телят составила 20 %, а сохранность 92 %. В группе контроля заболеваемость телят острой кишечной инфекцией составила 40 %, а сохранность 84 % [118; 119; 122; 215].

Для изучения профилактической эффективности колианатоксина с ЛПС и ПАК на свиньях в хозяйстве, длительно неблагополучном по эшерихиозу поросят сформировали три группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой. В первой группе свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали КА+ЛПС+ПАК. Свиноматок иммунизировали первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 14 дней в дозе 0,25 мл, а второй через 7 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра. Вторую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали Коливаком в дозах согласно наставлению. Третья группа свиноматок была контрольной, они и полученные от них поросята не иммунизировались. За поро-

сятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных.

Результаты проведенного исследования по изучению профилактической эффективности применения препаратов у свиней представлены в таблице 45, из материалов которой видно, что в 1-й группе от пяти свиноматок было получено 55 поросят, из которых 8 гол. заболело и две пало. Заболеваемость по группе составила 14,5 %, смертность 3,6 %.

Таблица 45 – Сравнительная эффективность использования анатоксинов для профилактики эшерихиоза у поросят

Группа	Получено поросят	Заболело		Пало		Профилактическая эффективность, %	Сохранность, %
		гол.	%	гол.	%		
1 (КА+ЛПС+ПАК)	55	8	14,5	2	3,6	85,5	96,4
2 (Коливак)	55	12	21,8	4	7,3	78,2	92,7
3 (интактные)	55	27	49,1	11	20,0	–	80,0

Следовательно, профилактическая эффективность анатоксина с КА+ЛПС+ПАК составила 84,5 % при сохранности поросят в группе 96,4 %. Во 2-й группе, где свиноматки иммунизировались Коливаком, родилось 55 поросят, из которых 12 заболело и четыре пало. Заболеваемость по этой группе составила 21,8 %, смертность 7,3 %, профилактическая эффективность 78,2 %, при сохранности 92,7 %. В 3-й группе было получено 55 поросят, из них 27 заболело, 11 пало. Заболеваемость составила 49,1 %, смертность 20,0 %, а сохранность 80,0 %.

Следовательно, применение анатоксина с адъювантным комплексом против эшерихиоза в сочетании с двумя адъювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой позволило более эффективно профилактировать заболевание по-

росят энтеротоксигенной эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению со второй опытной группой на 7,3 %, а в сравнении с группой отрицательного контроля – на 34,6 %, при этом падеж сократился в 2–5,6 раза, что свидетельствует о высокой эффективности анатоксина с адьювантным комплексом.

Таким образом, эффективность проведения иммунизации супоросных свиных и стельных коров КА+ЛПС+ПАК достаточно высока. Сохранность у иммунизированных телят составила 100 %, при защитном эффекте в 92 %, а у поросят эти показатели были на уровне 96,4 % и 84,5 % соответственно. Следовательно, серия препаратов на основе комплексного токсидного компонента в сочетании с адьювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой при иммунизации супоросных свиноматок и стельных коров обеспечивает профилактический защитный эффект в отношении энтеротоксигенного эшерихиоза [118; 119; 121; 215].

3.7.2 Разработка иммунобиологического препарата на основе колианатоксина и минерально-масляного адьюванта, его иммуногенность и профилактическая эффективность

Получив в предыдущих исследованиях положительные результаты по повышению иммуногенности колианатоксина с помощью бактериального липополисахарида и полиэлектролита [118; 119; 121; 122; 141; 201; 210; 219; 222], следующей задачей стало продолжение работы по усилению пролонгации защитного эффекта биопрепарата. Известно, что лучшими веществами для этого являются минеральные и масляные адьюванты, применяемые как по отдельности, так и в совместном сочетании [1; 10; 99; 134; 272; 364; 393]. Ранее проведенными исследованиями установлено, что колианатоксин и применение в качестве адьюванта гидрата окиси алюминия [194; 195; 205], а также и минерального масла [54; 194; 195] провоцировали иммунный ответ у животных, но непродолжительное время, что сказывалось на эффекте профилактики и поствак-

цинальном протективном действии биопрепаратов. Поэтому было принято решение о стимуляции иммуногенности колианатоксина минерально-масляной композицией.

Биотехнологические приемы получения колианатоксина описаны в разделе 3.5.2 настоящей диссертации. Для изготовления Колианатоксина-ГОА + МА, на этапе стерилизующей фильтрации, когда отделили микробную массу от среды культивирования, вносили адъюванты: 2%-ую суспензию $Al(OH)_3$ (ГОА) и масляный адъювант (МА), состоящий из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1 – диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло «М» по ТУ 381011224 – 98,5 % (патент РФ № 2510845). Оптимальное соотношение компонентов и адъювантов, об. %:

2%-я суспензия $Al(OH)_3$	19–21
масляный адъювант	49–51
колианатоксин	до 100.

Количественные значения ввода адъювантов подобраны экспериментальным путем, при этом учитывалась иммуногенная активность гидроокиси алюминиевой масляной вакцины. При вводе гидрата окиси алюминия в объеме 18 % и масляного адъюванта – 48 % иммуногенная активность снижалась, и была не достаточной для длительного сохранения поствакцинального иммунитета. При вводе минерального адъюванта в объеме 22 %, а масляного – 52 % увеличения продукции специфических антител более значения, чем при их вводе в объеме 19–21 % и 49–51 % соответственно, не происходило, а экономические затраты возрастали. Кроме того, вслед за повышением ввода гидрата окиси алюминия возрастала опасность развития местной воспалительной реакции из-за раздражения тканей.

Полученный Колианатоксин-ГОА+МА фасовали по 100 мл в стерильные флаконы, укупоривают и проверяют на стерильность и безвредность. По внешнему виду готовый препарат представляет собой прозрачную опалесцирующую жидкость соломенного цвета с выпадающим беловато-сероватым осадком на дне, который при встряхивании флакона легко разбивается, образуя равномерную взвесь. Срок хранения в сухом и темном помещении при температуре 4–10 °С – 1 год.

При контрольных посевах на МПА, МПБ, среду Китта-Тароцци, Сабуро, Эндо рост бактериальной и грибной флоры отсутствовал, что свидетельствовало о стерильности препарата.

При внутрибрюшинном введении в дозе 0,3 мл белым мышам массой 20–22 г угнетения и гибели их в течение 10 дней не отмечали, что является показателем безвредности препарата.

Для изучения иммуногенных свойств колианатоксина и минерально-масляного адъюванта было сформировано четыре группы белых крыс по 6 гол. в каждой, которым внутримышечно однократно инъецировали по 0,15 мл препарата: в первой группе использовали колианатоксин (КА) без адъюванта, во второй – колианатоксин с гидратом окиси алюминия (КА+ГОВА), в третьей – колианатоксин с масляным адъювантом (КА+МА), в четвертой – колианатоксин с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантом (КА+ГОВА+МА). Спустя 7, 14, 28, 56, 90 и 120 дней в реакции непрямого гемагглютинации определяли титр антител к токсинам *E. coli*.

Влияние обезвреженных форм экзотоксинов кишечной палочки и минерально-масляного адъюванта на гуморальные факторы защиты изучали на лабораторных животных (белых крысах).

Из данных таблицы 46 видно, что у животных всех групп после ввода им вакцины в течение 7 дней вырабатываются антитела. Однако, в 2-й и 3-й группах, где он вводился с адъювантами, уровень антител был в 1,6 раза выше, чем у животных, которым вакцина вводилась без гидрата окиси алюминия и масляного адъюванта, а у животных 4-й группы уровень антител был в 1,8 раза более высоким.

В последующие дни у животных 1-й группы уровень антител снижался, а вот у животных из опытных групп он повышался, во 2-й – до 14 дня, 3-й и 4-й группе – до 28 дня, превысив показатели 1-й группы в 2,1, 2,4 и 2,8 раза соответственно (рисунок 56).

На 56-й день исследования титр антител в опытных группах оставался по-прежнему высоким, максимальное значение регистрировали в 4-й группе –

$6,2 \pm 0,5$, что в 3,4 раза превышало значение первой группы, и 1,2–1,3 раза – 2-й и 3-й опытных групп.

Таблица 46 – Титр специфических антител в сыворотке крови крыс после однократного введения колианатоксина с адъювантами (n = 10, M $\pm$ m)

Группа	Титр антител по дням после введения препаратов, log ₂					
	7	14	28	56	90	120
1 (КА)	$3,4 \pm 0,5$	$3,0 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,7$	$1,8 \pm 0,6$	$1,6 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,4$
2 (КА+ГОВА)	$5,2 \pm 0,3^*$	$6,2 \pm 0,6^*$	$5,8 \pm 0,5^*$	$5,2 \pm 0,4^*$	$3,6 \pm 0,2^*$	$2,2 \pm 0,6$
3 (КА+МА)	$5,4 \pm 0,5^*$	$5,8 \pm 0,4^*$	$6,2 \pm 0,4^*$	$4,8 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,3^*$	$2,4 \pm 0,7$
4 (КА+ГОВА+МА)	$6,4 \pm 0,5^*$	$6,8 \pm 0,4^*$	$7,4 \pm 0,7^*$	$6,2 \pm 0,5$	$4,8 \pm 0,3^*$	$3,6 \pm 0,4$
Примечание: * – P < 0,05 (статистическая достоверность различий по отношению к 1-й группе).						

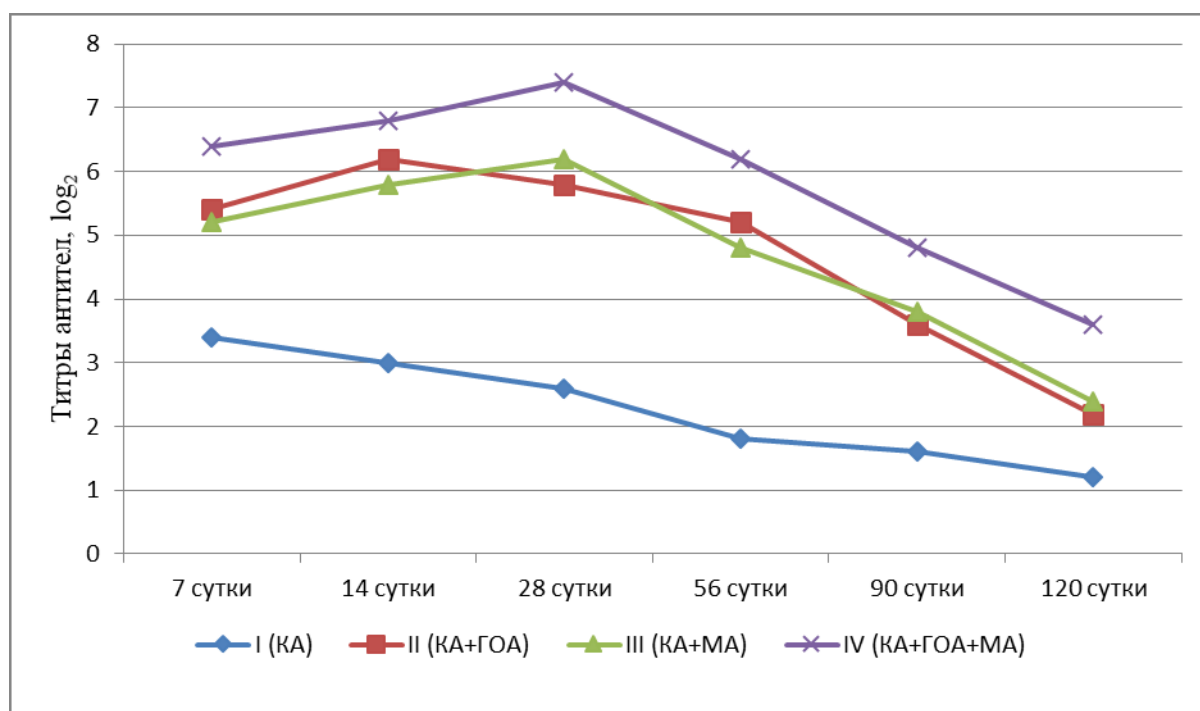


Рисунок 56 – Динамика образования антител у крыс под влиянием колианатоксина и минерально-масляного адъюванта

В последующем во всех группах установили постепенное снижение антител к 120 дню до значения $1,2 \pm 0,7$, $2,2 \pm 0,6$, $2,4 \pm 0,7$ и $3,6 \pm 0,4$ log₂ соответственно.

У животных 4-й группы уровень антитоксических антител оставался самым высоким даже спустя 120 дней после иммунизации и был достаточным для защитного действия от токсинов *E. coli* [123; 124; 125].

Изучение влияния сочетания ГОА и МА на иммуногенность колианатоксина на крупном рогатом скоте проводили в учебно-опытном хозяйстве «Кубань» ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ. Для проведения исследований сформировали по пять групп животных, в каждой по 10 стельных коров голштинской породы и пять супоросных свиноматок крупной белой породы. Животным вводили колианатоксин с комбинированным минерально-масляным адъювантом (КА+ГОА+МА), колианатоксин с гидратом окиси алюминия (КА+ГОА) и масляным адъювантом (КА+МА). Иммунизацию стельных коров осуществляли подкожно первый раз за 45 дней до отёла, а второй раз – за 15 дней до отёла, супоросных свиноматок внутримышечно первый раз за 40 дней до опороса, а второй раз – за 15 дней до опороса. Полученное потомство (поросят) иммунизировали двукратно. Дозы препаратов и схема опыта представлены в таблице 47. Сроки вакцинации определяли опытным путем с контролем максимального накопления антител у беременных животных в кровяном русле и молозиве. Двукратная вакцинация потомства осуществлялась по мере расходования у них молозивных антител с целью стимуляции выработки собственных защитных клеток против возбудителя эшерихиоза и повышения иммунного статуса у телят и поросят.

Таблица 47 – Схема опыта по использованию колианатоксина и адъювантов у свиней и крупного рогатого скота

Группа	Дозы препарата, см ³		
	свиноматки	поросята	коровы
1 (КА+ГОА+МА)	3 + 3	0,25 + 0,5	3 + 5
2 (КА+ГОА+МА)	3 + 5	0,5 + 0,5	5 + 5
3 (КА+ГОА+МА)	5 + 5	0,5 + 1	5 + 10
4 (КА+ГОА)	5 + 5	0,25 + 0,5	5 + 10
5 (КА+МА)	5 + 5	0,25 + 0,5	5 + 10

Результаты изучения влияния применения колианатоксина и адъювантов на титр антител у телят представлены в таблице 48. В результате иммунизации животных колианатоксином и адъювантными композициями обеспечивается стимуляция гуморального иммунитета против эшерихиозной инфекции, которая выражается в продукции антител. Иммунный ответ, обусловленный введением инаktivированных токсинов *E. coli* и масляно-минерального адъюванта, был более выражен и продолжителен, чем использование адъювантов по отдельности. Через 7 сут после первой иммунизации у животных в 3-й опытной группе титр антител достигал отметки $6,4 \log_2$ при дозе вакцинации $5 + 10$ мл, что было максимальным по всем испытываемым группам.

Таблица 48 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови коров и полученных от них телят после иммунизации КА с адъювантами ($n = 25$, $M \pm m$)

Группа	Титр антитоксических антител, $\log_2$			
	через 7 дней после 1-й иммунизации	через 7 дней после 2-й иммунизации	телята на 2-й день после рождения	телята на 7-й день после рождения
1 (КА+ГОА+МА)	$5,80 \pm 0,15$	$7,70 \pm 0,17$	$8,20 \pm 0,14^*$	$8,40 \pm 0,16$
2 (КА+ГОА+МА)	$6,20 \pm 0,16^*$	$7,90 \pm 0,15^*$	$8,40 \pm 0,18^*$	$8,60 \pm 0,15^*$
3 (КА+ГОА+МА)	$6,40 \pm 0,14^*$	$8,20 \pm 0,14^*$	$8,80 \pm 0,15^*$	$9,20 \pm 0,14^*$
4 (КА+ГОА)	$5,20 \pm 0,12$	$6,40 \pm 0,16$	$7,40 \pm 0,17$	$7,80 \pm 0,15$
5 (КА+МА)	$5,60 \pm 0,17$	$7,60 \pm 0,14$	$7,80 \pm 0,14$	$8,20 \pm 0,12$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).				

После второй иммунизации тенденция сохранилась. КА с ГОА+МА лучше стимулировал выработку антител у стельных коров, примерно в 1,1–1,3 раза. Титр антител у коров 1–3-й опытных групп сохранялся в пределах $7,7$ – $8,2 \log_2$ соответственно.

В свою очередь у телят на 2-е сутки после рождения максимальны уровень антитоксических антител составил $8,8 \log_2$, что в 1,1–1,2 раза превышало значение опытных групп. Количество иммуноглобулинов у телят в 4-й и 5-й контрольных группах были в пределах $7,4–7,8 \log_2$ соответственно. Как видно из рисунка 57, динамика нарастания титров антител у животных в 1–3-й опытных группах свидетельствовала о продолжении формирования специфического иммунитета и эффективности адъювантного комплекса. На 7-й день максимальное количество антител составило $9,2 \log_2$ у телят 3-й опытной группы, что в 1,1–1,2 раза превышало значения 5-й и 4-й групп соответственно, где адъюванты применялись по-отдельности. В 1-й и 2-й опытных группах у телят количество антител находилось в пределах $8,4–8,6 \log_2$ соответственно.

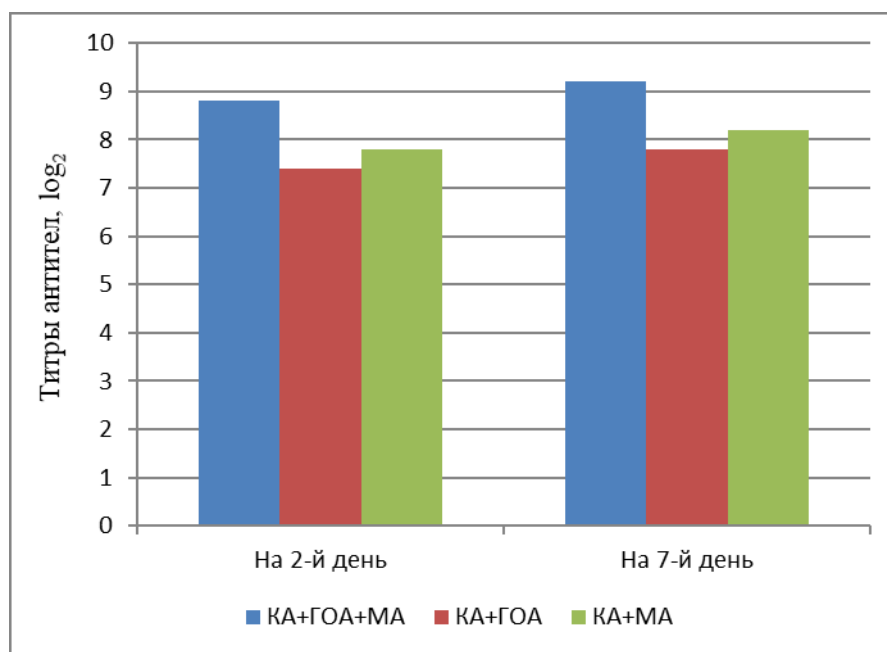


Рисунок 57 – Динамика накопления колостральных антител у телят

Таким образом, применение КА+ГОА+МА стельным коровам в дозе 5 + 10 мл обеспечивает накопление колостральных антител у новорожденных телят в течение 7 дней после рождения [123; 124; 125; 126; 191; 193; 211].

Влияние применения комбинаций адъювантов и инактивированных экзотоксинов эшерихий на титр антител у супоросных свиноматок представлены в таблице 49.

Таблица 49 – Титр специфических антитоксических антител в сыворотке крови и молозиве свиноматок после иммунизации КА с адъювантами
($n = 25$, $M \pm m$)

Группа	Титр антитоксических антител, $\log_2$		
	через 7 дней после 1-й вакцинации	через 7 дней после 2-й вакцинации	в молозиве на 1-й день после опороса
1 (КА+ГОВА+МА)	$6,40 \pm 0,18$	$7,80 \pm 0,17$	$8,80 \pm 0,14^*$
2 (КА+ГОВА+МА)	$6,80 \pm 0,15^*$	$8,20 \pm 0,15^*$	$9,20 \pm 0,16^*$
3 (КА+ГОВА+МА)	$7,20 \pm 0,14^*$	$8,60 \pm 0,12^*$	$9,60 \pm 0,13^*$
4 (КА+ГОВА)	$5,80 \pm 0,13$	$7,30 \pm 0,12$	$8,20 \pm 0,18$
5 (КА+МА)	$6,20 \pm 0,12$	$7,60 \pm 0,18$	$8,40 \pm 0,16$
Примечание: * – $P < 0,05$ (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).			

У свиноматок через 7 дней после однократного введения токсидных препаратов уровень антител находился в пределах $5,8$ – $7,2 \log_2$. При этом максимальное количество иммуноглобулинов было у свиней, иммунизированных инактивированными токсинами эшерихий и минерально-масляным адъювантом в дозе $5 + 5$ мл ($7,2 \log_2$). У животных в 4-й и 5-й группах титр антител был $1,1$ – $1,2$ раза ниже, чем у свиней 3-й группы.

Через 7 дней после повторной вакцинации уровень антител в контрольных группах находился в пределах $7,3$ – $7,6 \log_2$, когда как в опытных $7,8$ – $8,6 \log_2$. Такая тенденция сохранилась при исследовании молозивных антител у иммунизированных свиноматок. Вакцинация КА с ГОВА+МА в дозе $5 + 5$ мл обеспечила накопление антитоксических антител в молозиве $9,6 \log_2$, что было максимальным среди других опытных и контрольных групп.

В свою очередь, у поросят на 2-й день после рождения уровень колостральных антител сохранялся в пределах $7,2$ – $8,8 \log_2$. На 7-е сутки после рождения во всех группах наблюдали постепенное снижение титра антител во всех группах. При этом максимальное количество защитных клеток было у поросят в 3-й опытной группе – $8,2 \log_2$. У животных в контрольных группах количе-

ство иммуноглобулинов было ниже в 1,6 раза. У поросят 1-й и 2-й опытных групп титр антител был в пределах 7,3–7,8 $\log_2$ соответственно (таблица 50).

Таблица 50 – Титр колостральных антител в сыворотке крови у новорожденных поросят, полученных от иммунизированных свиноматок
(n = 10, M $\pm$ m)

Группа	Титр колостральных антитоксических антител, $\log_2$			
	на 2-й день после рождения	на 7-й день после рождения	на 14-й день после рождения	на 21-й день после рождения
1 (КА+ГОВА+МА)	7,80 $\pm$ 0,25	7,30 $\pm$ 0,21*	6,20 $\pm$ 0,13*	4,20 $\pm$ 0,25*
2 (КА+ГОВА+МА)	8,40 $\pm$ 0,18*	7,80 $\pm$ 0,19*	6,40 $\pm$ 0,21*	4,40 $\pm$ 0,23*
3 (КА+ГОВА+МА)	8,80 $\pm$ 0,23*	8,20 $\pm$ 0,17*	7,30 $\pm$ 0,16*	6,40 $\pm$ 0,22*
4 (КА+ГОВА)	7,20 $\pm$ 0,21	5,10 $\pm$ 0,14	4,30 $\pm$ 0,15	2,60 $\pm$ 0,27
5 (КА+МА)	7,40 $\pm$ 0,24	4,90 $\pm$ 0,15	4,10 $\pm$ 0,19	2,80 $\pm$ 0,24
Примечание: * – P < 0,05 (статистическая достоверность различий по отношению к 4–5-й группам).				

На 14-й день у животных контрольных групп титр антител находился на уровне 4,1–4,3 $\log_2$ (рисунок 58). В опытных группах количество защитных клеток находился в пределах 6,2–7,3 $\log_2$. На 21-й день после рождения максимальный уровень колостральных защитных клеток (6,4 $\log_2$) сохранился в группе поросят, чьи матери были иммунизированы КА+ГОВА+МА двукратно в дозе 5 мл.

Для профилактики отечной болезни поросят провели дополнительные исследования по применению колианатоксина с ГОВА+МА в схемах, включающих вакцинацию беременных животных и двукратную иммунизацию родившегося поголовья.

Для этого из поросят, полученных от двукратно иммунизированных свиноматок КА с ГОВА+МА в дозе 5 мл, сформировали три группы. Первой группе животных вводили КА с ГОВА+МА в дозах 0,25 + 0,5 мл, второй – 0,5 + 0,5 мл, третьей – 0,5 + 1 мл. Вакцинацию поросят осуществляли на 21-й день после их рождения на стадии расходования защитных колостральных антител.

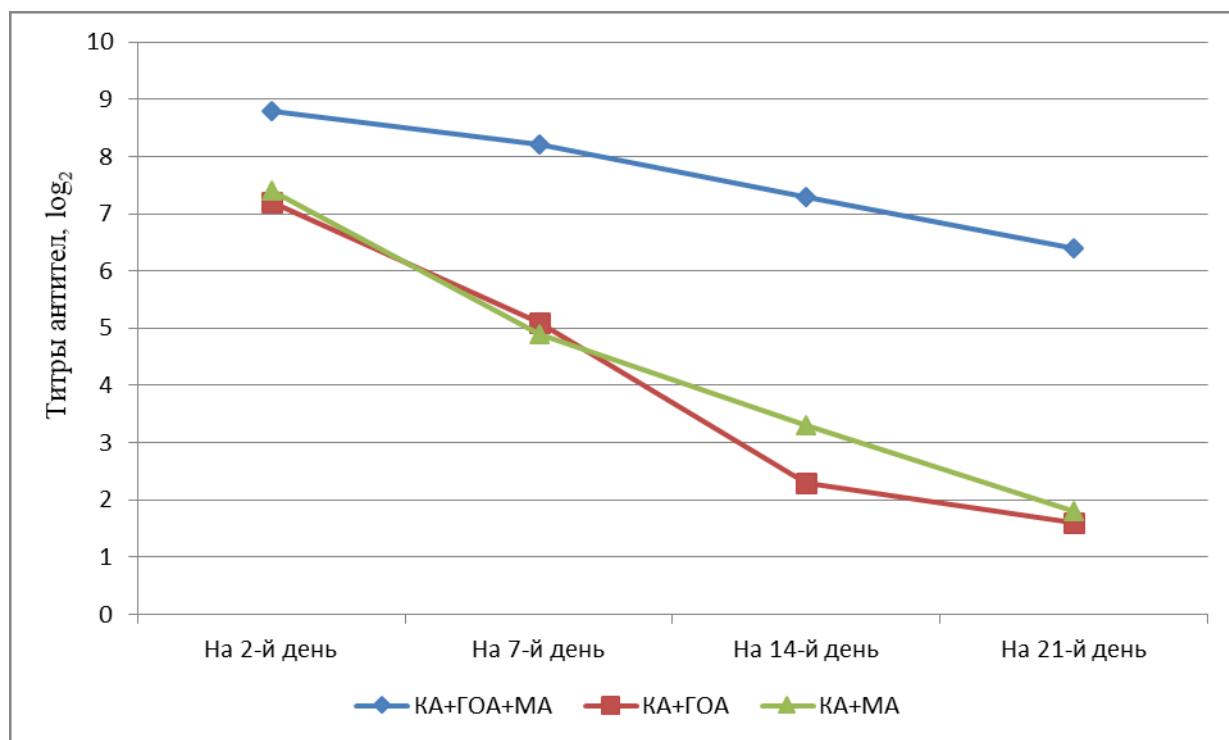


Рисунок 58— Динамика накопления колостральных антител у поросят

Как видно из таблицы 51, на 7-й день после первой вакцинации поросят количество иммуноглобулинов находилось в пределах $6,2\text{--}6,8 \log_2$. Максимальный титр антител регистрировали у животных во 2-й группе ($6,8 \log_2$).

На 7-й день после 2-й вакцинации в группе животных, где применяли инактивированные токсины с минерально-масляным адъювантом в дозе 0,5 мл, уровень антител находился в пределах $7,2\text{--}8,2 \log_2$. Повышение дозы ревакцинации до 1 мл (3-я группа) способствовала повышению антител до $6,8 \log_2$.

На 14-й день после последней вакцинации титр антитоксических иммуноглобулинов был максимальным во всех группах животных. У животных в 1-й группе количество иммуноглобулинов по-прежнему оставался выше, что в других группах и составил $8,8 \log_2$.

Через 28 и 56 дней количество антител снизилось: в 1-й группе — до $7,6 \log_2$ и $6,3 \log_2$, во второй группе — до $6,4 \log_2$ и $5,4 \log_2$, в третьей группе — до $6,6 \log_2$ и $5,2 \log_2$ соответственно.

Следовательно, для профилактики отечной болезни у поросят следует их вакцинировать КА с ГОА+МА через 21 день после рождения в дозе 0,25 мл

и ревакцинировать дозой 0,5 мл через 7 дней. При этом титр защитных антител сохраняется в течение 56 дней.

Таблица 51 – Титр антител в сыворотке крови у поросят, иммунизированных различными дозами КА с ГОА+МА (n = 10, M ± m)

Группа	Титр антитоксических антител, log ₂				
	на 7-й день после 1-й вакцинации	на 7-й день после 2-й вакцинации	на 14-й день после 2-й вакцинации	на 28-й день после 2-й вакцинации	на 56-й день после 2-й вакцинации
1 (КА+ГОА+МА)	6,20 ± 0,15	8,20 ± 0,15*	8,80 ± 0,15*	7,60 ± 0,13*	6,30 ± 0,17*
2 (КА+ГОА+МА)	6,80 ± 0,16	7,20 ± 0,19*	7,60 ± 0,13	6,40 ± 0,17	5,40 ± 0,15
3 (КА+ГОА+МА)	6,60 ± 0,14	6,80 ± 0,19	7,80 ± 0,17	6,60 ± 0,21	5,20 ± 0,17
Примечание: * – P < 0,05.					

Таким образом, применение комбинированного минерально-масляного адьюванта повышает иммуногенность инактивированных токсинов *E. coli*, что выражается в усилении антителообразования и продолжительности иммунного ответа у животных. Максимальное количество антител у телят регистрировали на 7-й день после рождения, у поросят на и 14-й день после последней вакцинации. По истечении 56 дней после введения препаратов титр антител у поросят оставался самым высоким в группах, которым вводили колианатоксин с адьювантной композицией (ГОА+МА), и составил 6,3 log₂. Препараты на основе токсидных компонентов и адьювантов не обладали реактогенностью, являлись безопасными в использовании и эффективными для профилактики инфекции, вызванной патогенными токсигенными эшерихиями [123; 124; 125; 126; 127; 191; 193; 211].

Профилактическую эффективность колианатоксина и минерально-масляного адьюванта у крупного рогатого скота изучали в хозяйстве Краснодарского края, неблагополучном по эшерихиозу телят, где провели производственное испытание вакцины. По данным ветеринарной лаборатории диарею у молодня-

ка крупного рогатого скота в данном хозяйстве вызывают патогенные штаммы кишечной палочки. Эффективность колианатоксина с минерально-масляным адъювантом, сравнивали с эффективностью прототипов, для этого было сформировано три группы стельных коров по 25 гол. в каждой.

Первую группу коров иммунизировали КА с ГОА+МА первый раз за 45 дней до отёла в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней до отёла в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Вторую группу коров иммунизировали вакциной Коливак в дозах согласно наставлению. Третья группа коров была контрольной, они не иммунизировались. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и летальности.

Влияние применения Колианатоксина-ГОА+МА на титр антител у телят представлены в таблице 52, из которой видно, что иммунизация коров и телят КА и комплексом адъювантов обеспечивает более напряженный и продолжительный специфический иммунитет против эшерихиозной инфекции.

Таблица 52 – Эффективность использования вакцин при эшерихиозе у телят

Группа	Кол-во телят в группе	Заболело, гол. / Заболеваемость, %	Защита (эффективность), %	Пало, гол	Летальность, %	Сохранность, %
1-я – иммунизировалась КА+ГОА+МА	25	3 / 12	88	0	0	100
2-я опытная	25	6 / 24	76	2	33,3	92
3-я контрольная	25	12 / 48	–	6	50,0	76

Результаты опыта отражены в таблице 52, из материалов которой, видно, что в первой группе эшерихиозная инфекция была зарегистрирована у трех те-

лят, при этом диарею у них удалось купировать в течение 3 дней, а на 5-й день телята полностью выздоровели. Таким образом, профилактическая эффективность КА с минерально-масляным адъювантом составила 88 %, сохранность – 100 %.

Во 2-й группе эшерихиозная инфекция была зарегистрирована у шести телят, причем у двух телят она протекала очень тяжело и закончилась гибелью животных. Профилактическая эффективность аналога составила 76 %, сохранность – 92 %.

В контрольной группе заболеваемость телят острой кишечной инфекцией составила 48 %, а сохранность – 76 % [123; 124; 125; 126].

Для обоснования эффективности использования Колианатоксина-ГОА+МА для профилактики эшерихиоза у поросят, в хозяйстве длительно неблагополучном по эшерихиозу были сформированы 3 группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой.

В первой группе свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали КА+ГОА+МА. Свиноматок иммунизировали первый раз за 40 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней до опороса в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 21 дней в дозе 0,25 мл, а второй раз – через 7 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Вторую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали вакциной Коливак по схеме и в дозах согласно наставлению.

Третья группа свиноматок была контрольной, они и полученные от них поросята не иммунизировались.

За поросятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных.

Результаты проведенного исследования представлены в таблице 53, из материалов которой видно, что в 1-й группе от пяти свиноматок было получено 55 поросят, из которых 8 гол. заболело и две пало. Заболеваемость по группе составила 14,5 %, смертность – 3,6%. Следовательно, профилактическая эффективность заявляемого способа составила 85,5 % при сохранности поросят в группе 96,4 %.

Таблица 53 – Сравнительная эффективность использования вакцины для профилактики эшерихиоза у поросят

Группа	Получено поросят	Заболело		Пало		Профилактическая эффективность, %	Сохранность, %
		гол.	%	гол.	%		
1-я – иммунизировалась КА+ГОА+МА	55	8	14,5	2	3,6	85,5	96,4
2-я опытная	55	14	25,4	5	9,1	74,6	90,9
3-я контрольная	55	28	50,9	12	21,8	-	78,2

Во 2-й группе, где свиноматки иммунизировались вакциной Коливак, родилось 55 поросят, из которых 14 заболело и 5 пало. Заболеваемость по этой группе составила 25,4 %, смертность – 9,1 %, профилактическая эффективность – 74,6 % при сохранности 90,9 %.

В 3-й группе было получено 55 поросят, из них 28 заболело, 12 пало. Заболеваемость составила 50,9 %, смертность – 21,8 %, сохранность – 78,2 %.

Следовательно, применение КА+ГОА+МА, позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят с эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с аналогом на 10,9 %, а в сравнении с 3-й группой (контроль) на 36,4 %, при этом падеж сократился в 2,5–6 раз, что свидетельствует о высокой эффективности испытуемой вакцины [123; 124; 125; 127].

3.8 Профилактика кишечных инфекций телят и поросят с использованием ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции

Как показали результаты наших исследований, в этиологии неонатальных диарей у молодняка крупного рогатого скота и свиней преобладают *E. coli*,

S. bovis и *E. faecalis*. Достаточно часто эти микроорганизмы выступают в форме патогенного консорциума, обуславливая развитие смешенной кишечной инфекции [153; 173]. В связи с чем при организации профилактических мероприятий включение ассоциированных вакцин, состоящих из антигенов доминирующих возбудителей диарей, является более предпочтительным, чем использование моновакцин. Однако в настоящее время ни одна биофабрика страны не выпускает вакцину, в состав которой входили бы одновременно антигены патогенных *E. coli*, *S. bovis* и *E. faecalis*, что побудило нас к разработке такой вакцины с целью применения в хозяйствах неблагополучных по кишечным инфекциям новорожденных телят и поросят.

3.8.1 Разработка ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят

Для получения вакцины ассоциированной против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции использовали депонированные штаммы патогенных *E. coli* (KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923, KubGAU B-933) с уже известными свойствами и эпизоотические изоляты гемолитических вариантов *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis*. Отобранные штаммы по отдельности засеивали в пробирки с 10 мл питательного бульона, состоящего из кислотного гидролизата крови (9–11 %), аутолизата пекарских дрожжей (9–11 %), ферментативного пептона (0,9–1,1 %), натрия хлорида (0,4–0,6 %), двузамещенного фосфорнокислого натрия (0,05–0,15 %), калия хлорида (0,01–0,03 %) и дистиллированной воды (до 100 %) [107]. Для стрептококка и энтерококка дополнительно в эту питательную среду вносили стерильный 40%-й раствор глюкозы до 1 % концентрации. Посевы инкубировали при 37 °С в течение 6–8 ч до появления легкой мути, свидетельствующей о росте микроорганизмов. Затем полученные культуры переносили в колбы с 200–300 мл аналогичного питательного бульона и инкубировали при 37 °С: штаммы *E. coli* в течение

7 дней, а штаммы *S. bovis* и *E. faecalis* – в течение 24 ч до достижения концентрации 5–6 млрд микробных клеток в 1 мл. Ежедневно 2 раза в сутки колбы встряхивали. По окончании инкубации во все культуры добавляли формалин до концентрации 0,3–0,4 % и осуществляли инактивацию *E. coli* в течение 14 сут, *S. bovis* и *E. faecalis* – 3 сут при температуре 37 °С с ежедневным двукратным перемешиванием. После завершения инактивации равные объемы культур *E. coli* объединяли и с помощью стерилизующей фильтрации отделяли микробную массу от среды культивирования, получая, таким образом, бесклеточную культуральную среду *E. coli* (колибактериозный антигенный компонент, колианатоксин). Инаktivированные культуры стрептококка и энтерококка подвергали стандартизации путем разбавления их физиологическим раствором до концентрации 5 млрд микробных клеток в 1 см³ по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. Далее колианатоксин и инаktivированные бульонные культуры *S. bovis* и *E. faecalis* соединяли при следующем соотношении компонентов, мас. %:

культуральная среда, содержащая инаktivированные	
клетки гемолитических штаммов <i>Streptococcus bovis</i>	26,0–30,0
культуральная среда, содержащая инаktivированные	
клетки гемолитических штаммов <i>Enterococcus faecalis</i>	26,0–30,0
колианатоксин	остальное.

Полученную вакцину фасовали в стерильные стеклянные флаконы объемом 100 см³, укупоривали и осуществляли контроль на стерильность, безвредность и иммуногенность. По внешнему виду готовая вакцина представляет собой жидкость светло-коричневого цвета с рыхлым беловато-серым осадком, который при встряхивании легко разбивается в гомогенную взвесь.

При контрольных посевах на МПА, МПБ, среды Китт-Тароцци, Сабуро, Эндо рост бактериальной и грибной флоры отсутствовал, что свидетельствовало о стерильности препарата.

При подкожном введении вакцины белым мышам массой 20–22 г в дозе 0,3 мл угнетения и гибели их в течение 10 дней не отмечали, что является показателем ее безвредности [109; 116].

Иммуногенные свойства вакцины проверяли на пяти кроликах массой 2,5–3 кг, при этом оценивали накопление в сыворотке крови животных антитоксических антител в реакции гемагглютинации и антител к капсульному антигену стрептококка и энтерококка в реакции преципитации в стеклянном капилляре. Кроликов иммунизировали дважды с интервалом 7 дней в дозе 1,0 мл. Перед второй иммунизацией и спустя 7 дней после второй иммунизации у животных отбирали кровь и исследовали на наличие специфических антител. Результаты представлены в таблице 54, из данных которой видно, что после введения вакцины у кроликов появляются специфические антитела к токсинам кишечной палочки и капсульным антигенам *S. bovis* и *E. fecalis*. После повторного введения вакцины уровень специфических антител к вакцинным антигенам увеличился в 4–8 раз, что свидетельствует о выраженных иммуногенных свойствах препарата.

Таблица 54 – Иммуногенные свойства ассоциированной вакцины против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции

Антиген	Титр антител		
	до иммунизации	после 1-й иммунизации	после 2-й иммунизации
Токсины <i>E. coli</i>	0	1:8–1:16	1:32–1:64
Капсула <i>S. bovis</i>	0–1:1	1:4–1:8	1:16–1:32
Капсула <i>E. fecalis</i>	0–1:1	1:2–1:4	1:8–1:16

Защитные свойства ассоциированной вакцины против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции проверяли на модели острых инфекций при внутрибрюшинном заражении белых мышей. Эшерихиозную токсикоинфекцию моделировали введением смеси токсинов в дозе 0,1 мл (2 LD₅₀), стрептококковую и энтерококковую инфекцию – введением суточных бульонных культур в дозе 300 и 500 млн м.т. соответственно. Для этого было сформировано три опытных и три контрольных группы по 10 мышей

в каждой. Мышей опытных групп дважды с интервалом 7 дней иммунизировали вакциной, ассоциированной против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят в дозе 0,1 мл. Мышам контрольных групп ничего не вводили. Через 7 дней после второй иммунизации животных опытных и контрольных групп заражали и в течение 10 дней вели наблюдение, учитывая при этом количество павших. Результаты опыта представлены в таблице 55. Из материалов данной таблицы видно, что разработанная нами вакцина обеспечивает защиту от 80 до 100 % животных при их экспериментальном заражении.

Таблица 55 – Защитные свойства вакцины, ассоциированной при экспериментальных инфекциях на белых мышах

Группа	Количество животных в группе	Пало	Выжило	Сохранность, %
Эшерихиозная токсикоинфекция				
Опытная	10	2	8	80
Контрольная	10	10	0	0
Стрептококковая инфекция				
Опытная	10	1	9	90
Контрольная	10	8	2	20
Энтерококковая инфекция				
Опытная	10	0	10	100
Контрольная	10	7	3	30

На введение вакцины каких-либо общих и местных побочных явлений отмечено не было и поскольку она обеспечивала высокую сохранность белых мышей при экспериментальных инфекциях, то может быть допущена к дальнейшим исследованиям с целью изучения возможного использования в ветеринарии в качестве биопрепарата для профилактики колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции у телят и поросят [109; 116].

3.8.2 Иммуногенная активность и профилактическая эффективность ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции телят и поросят

Предварительные исследования на лабораторных животных показали, что разработанная нами ассоциированная вакцина против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции телят и поросят обладает выраженными иммуногенными и защитными свойствами, не вызывает местные и общие поствакцинальные реакции [109; 116]. Поэтому на втором этапе исследований необходимо было установить, как будут реагировать на введение вакцины свиньи и крупный рогатый скот.

Изучение иммуногенной активности ассоциированной вакцины на свиноматках проводили на свиноферме «Пятачок» учхоза «Кубань». Для опыта по принципу пар аналогов отобрали 20 супоросных свиноматок, из которых сформировали три опытных и одну контрольную группы по 5 гол. в каждой. Свиноматок опытных групп иммунизировали дважды внутримышечно – за 30 и 20 дней до опороса. Животным 1-й группы вакцину вводили в дозе 3 мл, 2-й группы – 5 мл, 3-й группы – 7 мл; 4-я группа была контрольной, животным которой ничего не вводили. После каждой иммунизации за свиноматками вели регулярное клиническое наблюдение, в ходе которого поствакцинальных общих (отказ от корма, угнетение, повышение температуры тела) и местных (болезненность и покраснение места инъекции) реакций, а также поствакцинальных осложнений в виде маститов и абортов не выявлено. У свиноматок через 7 дней после второй иммунизации в РНГА и РП определяли уровень специфических антител в сыворотке крови, а сразу после опороса в молозиве. У новорожденных поросят (по три поросенка от каждой свиноматки) на 3 сут жизни определяли уровень колостральных антител.

Результаты опыта представлены в таблице 56, из материалов которой видно, что до иммунизации у всех свиноматок регистрировали следовые количе-

ства антител к эшерихиозному, стрептококковому и энтерококковому антигенам, что является свидетельством персистенции данных микроорганизмов среди взрослого поголовья свиней. После введения вакцины у всех подопытных свиноматок наблюдали достаточно высокий уровень специфических антител.

Таблица 56– Уровень специфических антител к антигенам возбудителей острых кишечных инфекций у свиноматок и полученных от них поросят (n = 5)

Группа	Доза вакцины, мл	Титр антител			
		у свиноматок			у новорожденных поросят на 3-й день после рождения
		в крови до иммунизации	в крови через 7 дней после 2-й иммунизации	в молозиве на 1-й день после опороса	
К колибактериозному антигену (токсинам)					
1-я опытная	3,0 + 3,0	1:1–1:2	1:8–1:16	1:8–1:32	1:8–1:32
2-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:16–1:64	1:64–1:128	1:32–1:64
3-я опытная	7,0 + 7,0	1:1–1:2	1:16–1:32	1:32–1:128	1:16–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:2–1:4	1:2–1:8	1:2–1:4
К стрептококковому антигену (капсульному)					
1-я опытная	3,0 + 3,0	1:1–1:2	1:4–1:8	1:4–1:16	1:8–1:16
2-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:32–1:64	1:32–1:256	1:32–1:128
3-я опытная	7,0 + 7,0	1:1–1:2	1:32–1:64	1:32–1:128	1:16–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:4–1:8	1:4–1:8	1:2–1:8
К энтерококковому антигену (капсульному)					
1-я опытная	3,0 + 3,0	1:1–1:2	1:4–1:8	1:4–1:16	1:4–1:32
2-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:16–1:32	1:64–1:128	1:16–1:128
3-я опытная	7,0 + 7,0	1:1–1:2	1:32–1:64	1:64–1:128	1:32–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:2–1:4	1:4–1:8	1:2–1:8

Из материалов таблицы 56 видно, что иммунизация свиноматок ассоциированной вакциной обеспечивает накопление специфических антител в сыворотке крови и молозиве, о чем свидетельствует рост титров к эшерихиозному, стрептококковому и энтерококковому антигенам. Если у свиноматок контрольной группы непосредственно перед опоросом уровень специфических антител в сыворотке крови и в молозиве после опороса в отношении экзотоксинов кишечной палочки и капсульным антигенам стрепто- и энтерококков находился в диапазоне 1:2–1:8, то у свиноматок из опытных групп он был в 4–30 раз большим. У поросят, полученных от иммунизированных свиноматок на 3-й день после рождения уровень колострального иммунитета в отношении факторов патогенности эшерихий, стрепто- энтерококков был также более выраженным, поскольку уровень специфических антител у них в сыворотке крови был выше в 4–16 раз, чем у поросят из контрольной группы. Наибольшую продукцию поствакцинальных антител наблюдали во 2-й опытной группе, где свиноматки иммунизировались дважды в дозе 5 мл, практически аналогичные результаты были получены при иммунизации свиноматок в дозе 7 мл. У свиноматок 1-й опытной группы, иммунизовавшихся в дозе 3 мл, уровень антител по сравнению со свиноматками 2-й и 3-й опытных групп был в 2–8 раз меньшим [77; 78; 109; 114; 116; 209; 212].

Таким образом, двукратная вакцинация супоросных свиноматок разработанной ассоциированной вакциной против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции позволяет формировать у них выраженный иммунный ответ в виде продуцирования специфических антител. При этом оптимальной можно считать дозу 5 мл, так как после применения дозы 7 мл иммунный ответ был практически аналогичным. Иммунизация супоросных свиноматок за 30 и 20 дней до опороса в дозе 5 мл позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:96–1:144, а у новорождённых поросят, полученных от этих свиноматок – 1:48–1:72, что позволяет предположить высокую профилактическую эффективность ассоциированной вакцины в отношении возбудителей острых кишечных болезней.

Второй этап исследований проводили на крупном рогатом скоте чернопестрой породы, принадлежащих учебно-опытному хозяйству «Кубань» ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ. Для опыта по принципу пар аналогов отобрали 40 стельных коров за 30 дней до предполагаемых родов, из которых сформировали три опытных и одну контрольную группы по 10 гол. в каждой. Коров опытных групп иммунизировали дважды внутримышечно – за 30 и 15 дней до отела. Животным 1-й группы вакцину вводили в дозе 5 мл, 2-й группы – 5 мл и 10 мл, 3-й группы – 10 мл; 4-я группа была контрольной, животным которой ничего не вводили. После каждой иммунизации за коровами вели регулярное клиническое наблюдение, в ходе которого поствакцинальных общих (отказ от корма, угнетение, повышение температуры тела) и местных (болезненность и покраснение места инъекции) реакций, а также поствакцинальных осложнений в виде маститов и абортов не выявлено. У коров через 7 дней после второй иммунизации в РНГА и РП определяли уровень специфических антител в сыворотке крови, а сразу после отела – в молозиве. У новорожденных телят на третьи сутки жизни определяли уровень колостральных антител.

Результаты опыта представлены в таблице 57, из материалов которой видно, что до иммунизации у всех коров регистрировали «фоновые» антитела к эшерихиозному, стрептококковому и энтерококковому антигенам, что является свидетельством персистенции данных микроорганизмов среди взрослого поголовья крупного рогатого скота. После введения вакцины у всех подопытных коров наблюдали достаточно высокий уровень специфических антител.

Из материалов таблицы 57 видно, что иммунизация коров ассоциированной вакциной обеспечивает накопление специфических антител в сыворотке крови и молозиве, о чем свидетельствует рост титров к эшерихиозному, стрептококковому и энтерококковому антигенам. Если у коров контрольной группы непосредственно перед отелом уровень специфических антител в сыворотке крови и в молозиве после отела в отношении экзотоксинов кишечной палочки и капсульным антигенам стрепто- и энтерококков находился в диапазоне 1:2–1:8, то у коров из опытных групп он был в 4–32 раза большим. Наибольший титр иммуноглобули-

нов к трем антигенам регистрировали в молозиве у коров из второй опытной группы, где они находились в диапазоне 1:64–1:256. В первой и второй группе количество специфических молозивных антител было значительно меньше – в пределах 1:8 и 1:128. Полученные данные свидетельствуют о высокой иммуногенной активности ассоциированной вакцины, которая выражается в стимулировании антителообразования у вакцинированных животных.

Таблица 57 – Уровень специфических антител к антигенам возбудителей острых кишечных инфекций у коров и полученных от них телят (n = 10)

Группа	Доза вакцины, мл	Титр антител			
		у коров			у новорожденных телят на 3-й день после рождения
		в крови до иммунизации	в крови через 7 дней после 2-й иммунизации	в молозиве на 1-й день после отела	
К колибактериозному антигену (токсинам)					
1-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:16–1:32	1:32–1:64	1:8–1:16
2-я опытная	5,0 + 10,0	1:1–1:2	1:64–1:128	1:64–1:256	1:32–1:128
3-я опытная	10,0 + 10,0	1:1–1:2	1:64–1:256	1:32–1:128	1:32–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:2–1:4	1:2–1:4	1:2–1:4
К стрептококковому антигену (капсульному)					
1-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:8–1:16	1:16–1:32	1:4–1:16
2-я опытная	5,0 + 10,0	1:1–1:2	1:32–1:128	1:64–1:256	1:64–1:128
3-я опытная	10,0 + 10,0	1:1–1:2	1:32–1:64	1:32–1:128	1:16–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:2–1:4	1:4–1:8	1:2–1:8
К энтерококковому антигену (капсульному)					
1-я опытная	5,0 + 5,0	1:1–1:2	1:4–1:16	1:8–1:32	1:8–1:16
2-я опытная	5,0 + 10,0	1:1–1:2	1:16–1:32	1:64–1:128	1:32–1:128
3-я опытная	10,0 + 10,0	1:1–1:2	1:32–1:64	1:32–1:128	1:16–1:64
4-я контрольная	–	1:1–1:2	1:2–1:4	1:4–1:8	1:2–1:8

При этом разные дозировки препарата по-разному влияли на клетки, отвечающие за выработку антител. Наибольшее количество иммуноглобулинов наблюдали в группе стельных коров, иммунизированных двукратно в дозах 5 и 10 мл. Результаты данного исследования показали, что антитела, выработанные после вакцинации животных и накопленные в высоких титрах в кровяном русле, были успешно доставлены в молозиво коров. Теперь важно знать, в каких количествах получит антитела новорожденный теленок. Для этого после отела строго контролировали время выпойки молозива и на 3 сут у телят отобрали пробы сыворотки крови для исследования наличия антител. У телят, полученных от иммунизированных коров уровень колострального иммунитета в отношении факторов патогенности эшерихий, стрепто- и энтерококков был также более выраженным, поскольку уровень специфических антител у них в сыворотке крови был выше в 4–16 раз, чем у телят из контрольной группы. Наибольшую продукцию поствакцинальных антител наблюдали во 2-й опытной группе, где коровы иммунизировались дважды в дозе 5 и 10 мл, результаты в 2 раза меньше были получены при иммунизации коров в дозе 10 мл. У коров 1-й опытной группы, иммунизовавшихся в дозе 5 мл, уровень антител по сравнению с коровами 2-й и 3-й опытных групп был в 8 раз меньшим [77; 109; 115; 116; 218; 220].

Таким образом, двукратная вакцинация стельных коров разработанной ассоциированной вакциной против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции позволяет формировать у них выраженный иммунный ответ в виде продуцирования специфических антител. При этом оптимальной можно считать дозы 5 и 10 мл, так как после применения двукратной вакцинации в дозе 10 мл иммунный ответ был практически аналогичным. Иммунизация стельных коров за 30 и 20 дней до отела в дозе 5 и 10 мл позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:108–1:164, а у новорождённых телят, полученных от этих коров – 1:54–1:82, что позволяет предположить высокую профилактическую эффективность ассоциированной вакцины в отношении возбудителей острых кишечных болезней.

Для проведения профилактической эффективности ассоциированной вакцины в хозяйстве, длительно неблагополучном по острым кишечным заболеваниям поросят, сформировали три группы супоросных свиноматок по пять животных в каждой.

В 1-й группе (опытная) свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали вакциной, состоящей из смеси антигенов, включающей бесклеточную культуральную среду выделенных из пораженных органов поросят эпизоотических штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих термолабильный, термостабильный и шигаподобный токсины и культуральные среды содержащие клетки гемолитических штаммов *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis*. Свиноматок иммунизировали первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5,0 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5,0 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 15–17 дней в дозе 0,25 мл, а второй раз – в возрасте 28–30 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Свиноматок 2-й группы (положительный контроль) вакцинировали вакциной ОКЗ производства ООО «АГРОВЕТ» (г. Москва) согласно инструкции, а, именно, двукратно за 30 и 40 дней до опороса в дозе 5,0 мл подкожно. Поросят, полученных от данных свиноматок, вакцинировали первый раз в возрасте 25–27 дней, второй раз – в возрасте 35–37 дней подкожно в дозе 1,0 мл.

В 3-й группе (отрицательный контроль) ни свиноматок, ни полученных от них поросят не вакцинировали.

За поросятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 58. Из материалов таблицы видно, что в 1-й группе от пяти свиноматок было получено 53 поросенка, из которых 8 гол. заболело и две пало. Заболеваемость по группе составила 15,1 %, смертность – 3,8 %. Следовательно, профилактическая эффективность заявляемого способа составила 84,9 % при сохранности поросят в группе 96,2 %.

Таблица 58 – Сравнительная эффективность специфической профилактики острых кишечных заболеваний поросят и прототипа

Группа	Получено поросят	Заболело		Пало		Профилактическая эффективность, %	Сохранность, %
		гол.	%	гол.	%		
1-я опытная	53	8	15,1	2	3,8	84,9	96,2
2-я контрольная (положительный)	52	17	32,7	5	9,6	67,3	90,4
3-я контрольная (отрицательный)	53	28	52,8	9	17,0	–	83,0

Во 2-й группе, где свиноматки иммунизировались вакциной ОКЗ, родилось 52 поросенка, из которых 17 заболело и пять пало. Заболеваемость по этой группе составила 32,7 %, смертность – 9,6 %, профилактическая эффективность вакцины ОКЗ – 67,3 % при сохранности 90,4 %.

В 3-й группе было получено 53 поросенка, из них 28 заболело, 9 пало. Заболеваемость составила 52,8 %, смертность – 17 %, а сохранность – 83 %.

Следовательно, профилактика острых кишечных заболеваний с использованием ассоциированной вакцины позволила снизить заболеваемость по сравнению с вакциной ОКЗ на 17,6 %, а в сравнении с группой отрицательного контроля – на 37,7 %, при этом падеж сократился в 2,5–4,5 раз, что свидетельствует о его высокой эффективности [79; 109; 114; 116; 214].

Для определения профилактической эффективности ассоциированной вакцины в хозяйстве, длительно неблагополучном по острым кишечным заболеваниям телят, сформировали три группы стельных коров по 25 животных в каждой.

В 1-й группе (опытная) коров и полученных от них телят иммунизировали вакциной, состоящей из смеси антигенов, включающей бесклеточную культуральную среду выделенных из пораженных органов телят и поросят

эпизоотических штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих термолабильный, термостабильный и шигаподобный токсины и культуральные среды содержащие клетки гемолитических штаммов *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis*. Коров иммунизировали первый раз за 30 дней до отёла в дозе 5,0 мл, второй раз – за 15 дней до отёла в дозе 10,0 мл. Полученных от этих коров телят (25 гол.) иммунизировали первый раз в возрасте 15–20 дней в дозе 1,0 мл, а второй раз – через 10–15 дней в дозе 2,0 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Коров 2-й группы (положительный контроль) вакцинировали вакциной ОКЗ производства ООО «АГРОВЕТ» (г. Москва) согласно наставлению, а, именно, двукратно за 30 и 20 дней до отёла в дозе 5,0 мл подкожно в области верхней трети шеи. Телят, полученных от данных коров (25 гол.), вакцинировали первый раз в возрасте 30 дней, второй раз – в возрасте 40 дней подкожно в области верхней трети шеи в дозе 1,5 мл.

В 3-й группе (отрицательный контроль) ни коров, ни полученных от них телят не вакцинировали.

Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их в другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и сохранности.

Результаты опыта отражены в таблице 59, из материалов которой видно, что в 1-й группе острая кишечная инфекция была зарегистрирована у двух телят, при этом диарею у них удалось купировать в течение 3 дней, а на 5-й день телята полностью выздоровели. Таким образом, профилактическая эффективность заявляемой вакцины составила 92 %.

Во 2-й группе острая кишечная инфекция была зарегистрирована у пяти телят, причем у одного теленка она протекала очень тяжело и закончилась гибелью животного. Профилактическая эффективность прототипа составила 80 %.

В 3-й группе из 25 телят заболело 18 животных, из которых пять пали. Таким образом, в 3-й группе заболеваемость составила 72 %, а летальность – 27,8 %, что свидетельствует о значительной тяжести течения болезни.

Таблица 59 – Сравнительная эффективность заявленного способа профилактики острых кишечных заболеваний телят и прототипа

Группа	Получено телят	Заболело		Пало		Профилактическая эффективность, %	Сохранность, %
		гол.	%	гол.	%		
1-я опытная	25	2	8	0	0	92	100
2-я контрольная (положительный)	25	5	20	1	4	80	96
3-я контрольная (отрицательный)	25	18	72	5	20	–	80

Следовательно, заявляемый способ профилактики острых кишечных заболеваний позволил снизить заболеваемость по сравнению с аналогом на 12 %, а по сравнению с группой отрицательного контроля – на 64% и добиться сохранности телят до 100 %, в то время как сохранность во 2-й группе составила 96 %, а в 3-й – 80 % [109; 115; 116].

Таким образом, за счет создания более напряженного специфического иммунитета применение ассоциированной вакцины позволяет с большей эффективностью осуществлять профилактику острых кишечных заболеваний у телят и обеспечивать их более высокую сохранность.

3.9 Экономическая эффективность применения колианатоксина и ассоциированной вакцины крупному рогатому скоту и свиньям

На основе результативных экспериментов был проведен расчет экономической эффективности применения различных форм препаратов колианатоксина в сочетании с ЛПС и ПАК, а также с ГОА и МА, а также ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции телят и поросят.

В контексте профилактических мероприятий по борьбе с эшерихиозом и острыми кишечными болезнями телят и поросят были учтены следующие ключевые показатели:

- снижение уровня заболеваемости – оценка уменьшения числа заболевших животных после применения препаратов;
- увеличение сохранности поголовья – процент выживаемости после курса профилактики;
- снижение затрат на лечение – оценка экономии средств, связанных с профилактикой животных;
- общий экономический эффект – итоговая выгода от внедрения новых схем лечения по сравнению с традиционными методами.

Для выполнения расчетов использовалась «Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» (1997), что позволило установить, какой из тестируемых препаратов демонстрирует наивысшую экономическую эффективность и, соответственно, лучший экономический результат.

Результаты экономических расчетов профилактических мероприятий при эшерихиозе телят представлены в таблице 60.

Таблица 60 – Экономическая эффективность профилактических мероприятий при эшерихиозе телят

Показатель	1-я опытная (КА-ЛПС+ПАК)	2-я опытная (КА-ГОА+МА)	3-я опытная (Коли-Вак)	Контрольная (интактные)
1	2	3	4	5
Количество животных в группе, гол.	25	25	25	25
Масса телят в группе (средняя), кг	38,4	36,5	32,6	30,2
Среднесуточный привес у животных по группе, г	650,3	630,4	620,7	530,5

Продолжение таблицы 60

1	2	3	4	5
Стоимость реализации живого веса за 1 кг (средняя), руб.	120,0			
Заболело животных, гол.	2	3	5	10
Пало животных, гол.	0	0	2	4
Предотвращенный экономический ущерб при профилактике, руб.	14868	14776,2	8095,2	1180,8
Цена профилактических препаратов (за 1 мл), руб.	3,5	3,0	2,0	–
Затраты ветеринарные на препараты, шприцы, иглы на одну голову, руб.	4285	4890	5925	8800
Экономический эффект, руб.	11333	10576,2	2830,2	– 7463,2
Экономическая эффективность ветеринарных мероприя- тий на 1 руб. затрат, руб.	2,6	2,2	0,47	– 0,85

1. Экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя (Уп):

$$Уп = Мп \times Ж \times Ц - Сф,$$

где Мп – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

Ж – средняя живая масса одного животного (кг);

Ц – закупочная цена 1 кг живой массы животного (руб.);

Сф – выручка от реализации продуктов убоя или трупного сырья (руб.).

$$Уп \text{ (3-я опытная)} = 2 \times 32,6 \times 120 - 1500 = 6324 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (контрольная)} = 4 \times 30,2 \times 120 - 1500 = 12996 \text{ руб.}$$

2. Экономический ущерб от снижения прироста живой массы (Упр):

$$У_{пр} = М \times (В_{по} - В_{до}) \times Т \times Ц,$$

где М – количество животных;

В_{до} – среднесуточный прирост живой массы до введения препарата (кг),

В_{по} – среднесуточный прирост в период течения болезни (кг);

Т – длительность течения болезни (дни);

Ц – закупочная цена кг живой массы (руб.).

$$У_{пр} (1\text{-я опытная}) = 2 \times (0,65 - 0,40) \times 3,3 \times 120 = 198,0 \text{ руб.}$$

$$У_{пр} (2\text{-я опытная}) = 3 \times (0,63 - 0,40) \times 3,5 \times 120 = 289,8 \text{ руб.}$$

$$У_{пр} (3\text{-я опытная}) = 5 \times (0,62 - 0,40) \times 4,9 \times 120 = 646,8 \text{ руб.}$$

$$У_{пр} (\text{контрольная}) = 10 \times (0,53 - 0,40) \times 5,7 \times 120 = 889,2 \text{ руб.}$$

3. Общий (суммарный) экономический ущерб (У_о):

$$У_о = У_п + У_{пр},$$

где У_п – экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя;

У_{пр} – экономический ущерб от снижения прироста живой массы.

$$У_о (1\text{-я опытная}) = 0 + 198,0 = 198,0 \text{ руб.}$$

$$У_о (2\text{-я опытная}) = 0 + 289,8 = 289,8 \text{ руб.}$$

$$У_о (3\text{-я опытная}) = 6324 + 646,8 = 6970,8 \text{ руб.}$$

$$У_о (\text{контрольная}) = 12996 + 889,2 = 13885,2 \text{ руб.}$$

4. Предотвращенный экономический ущерб при профилактике и ликвидации болезней животных (Пу):

$$Пу = М \times К_з \times К_{пп} \times Ц - У_о,$$

где М – число животных в стаде, группе (гол.);

К_з – коэффициент заболеваемости (0,62);

К_{пп} – коэффициент потери продукции (8,1);

Ц – закупочная цена кг живой массы (руб.);

У_о – суммарный экономический ущерб.

$$Пу (\text{опытная 1}) = 25 \times 0,62 \times 8,1 \times 120 - 198,0 = 14868 \text{ руб.}$$

$$Пу (\text{опытная 2}) = 25 \times 0,62 \times 8,1 \times 120 - 289,8 = 14776,2 \text{ руб.}$$

$$Пу (\text{опытная 3}) = 25 \times 0,62 \times 8,1 \times 120 - 6970,8 = 8095,2 \text{ руб.}$$

$$Пу (\text{контроль}) = 25 \times 0,62 \times 8,1 \times 120 - 13885,2 = 1180,8 \text{ руб.}$$

5. Экономический эффект:

$$\text{Эв} = \text{Пу} + \text{Дс} - \text{Зв},$$

где Эв – экономический эффект;

Пу – предотвращенный экономический ущерб;

Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения продукции;

Зв – затраты на ветеринарные мероприятия.

6. Дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции:

$$\text{Дс} = (\text{Вп.о.} - \text{Вп.э.}) \times \text{Ан},$$

где Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции;

Вп.о. – стоимость произведенной или реализованной продукции при применении различных ветеринарных профилактических схем;

Вп.э – стоимость произведенной продукции телят без лечения;

Ан – число обработанных животных.

Привесы живой массы у телят в опытных группах, где применяли испытуемые препараты, составляли 0,65, 0,63 и 0,62 кг соответственно. У телят группы контроля 0,53 кг. Привесы больных эшерихиозом животных составляли 0,4 кг. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$\text{Дс (1-я опытная)} = (78 - 48) \times 25 = 750 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (2-я опытная)} = (75,6 - 48) \times 25 = 690 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (3-я опытная)} = (74,4 - 48) \times 25 = 660 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (контрольная)} = (63,6 - 48) \times 10 = 156 \text{ руб.}$$

7. Затраты на проведение ветеринарных мероприятий:

$$\text{Зв} = (\text{З}_1 + \text{З}_2) \times \text{М}_1 + (\text{З}_1 + \text{З}_2) \times \text{М}_2,$$

где М₁ – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам;

М₂ – количество животных, подвергнутых лечебным обработкам;

З₁ – затраты на лечебно-профилактические препараты, на одну голову;

З₂ – затраты на шприцы, иглы и инъекцию на одну голову.

Согласно схемам профилактики на одно животное (стельная корова и полученное от нее потомство) в 1-й и 2-й опытных группа было потрачено 18 мл

препарата и использовано четыре шприца для инъекции. У животных в 3-й опытной группе было израсходовано на одно животное 25 мл вакцины и два шприца для инъекции. Заболевших животных опытных и контрольных групп лечили симптоматически, стоимость лечебной схемы составила 775 руб. на одно животное. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Зв (1\text{-я опытная}) = (63 + 42) \times 25 + (775 + 55) \times 2 = 2625 + 1660 = 4285 \text{ руб.}$$

$$Зв (2\text{-я опытная}) = (54 + 42) \times 25 + (775 + 55) \times 3 = 2400 + 2490 = 4890 \text{ руб.}$$

$$Зв (3\text{-я опытная}) = (50 + 21) \times 25 + (775 + 55) \times 5 = 1775 + 4150 = 5925 \text{ руб.}$$

$$Зв (\text{контрольная}) = 0 + (775 + 105) \times 10 = 8800 \text{ руб.}$$

Таким образом, можно рассчитать экономический эффект:

$$Эв (1\text{-я опытная}) = 14868 + 750 - 4285 = 11333 \text{ руб.}$$

$$Эв (2\text{-я опытная}) = 14776,2 + 690 - 4890 = 10576,2 \text{ руб.}$$

$$Эв (3\text{-я опытная}) = 8095,2 + 660 - 5925 = 2830,2 \text{ руб.}$$

$$Эв (\text{контрольная}) = 1180,8 + 156 - 8800 = - 7463,2 \text{ руб.}$$

8. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат:

$$Эр = Эв / Зв,$$

где Эв – экономический эффект (руб.);

Зв – затраты на проведение ветеринарных мероприятий (руб.).

$$Эр (1\text{-я опытная}) = 11333 / 4285 = 2,6.$$

$$Эр (2\text{-я опытная}) = 10576,2 / 4890 = 2,2.$$

$$Эр (3\text{-я опытная}) = 2830,2 / 5925 = 0,47.$$

$$Эр (\text{контрольная}) = - 7463,2 / 8800 = - 0,85.$$

Таким образом, применение колианатоксина с адьювантными комплексами ЛПС и ПАК и колианатоксина с минерально-масляным адьювантом в профилактической схеме мероприятий при эшерихиозе телят экономически выгодно. При этом профилактический эффект с экономической стороны выражен лучше у колианатоксина с ЛПС и ПАК, который превышает эффективность КА

с ГОА и МА в 1,2 раза. Экономический эффект на 1 руб. затрат при профилактике эшерихиоза составил 2,6 руб. и 2,2 руб. соответственно.

Для обоснования эффективности использования колианатоксина с ЛПС и ПАК и колианатоксина с ГОА и МА для профилактики эшерихиоза у поросят были проведены экономические расчеты, представленные в таблице 61.

Таблица 61 – Экономическая эффективность профилактических мероприятий при эшерихиозе поросят

Показатель	1-я опытная (КА-ЛПС+ПАК)	2-я опытная (КА-ГОА+МА)	3-я опытная (Коли-Вак)	Контрольная (интактные)
Количество животных в группе, гол	55	55	55	55
Масса поросят в группе (средняя), кг	18,4	17,5	15,6	13,2
Среднесуточный привес у животных по группе, г	250,3	230,4	220,7	210,5
Стоимость реализации живого веса за 1 кг (средняя), руб.	140,0			
Заболело животных, гол.	8	8	12	27
Пало животных, гол.	2	2	4	11
Предотвращенный экономический ущерб при профилактике, руб.	4273,5	4577	552,3	– 11848,6
Цена профилактических препаратов (за 1 мл), руб.	3,5	3,0	2,0	–
Затраты ветеринарные на препараты, шприцы, иглы на одну голову, руб.	1578	1536,5	1635	–
Экономический эффект, руб.	3465,5	3656,5	– 543,7	– 7463,2
Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат, руб.	2,2	2,4	– 0,33	–

1. Экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя (Уп):

$$Уп = Мп \times Ж \times Ц - Сф,$$

где $Мп$ – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

$Ж$ – средняя живая масса одного животного (кг);

$Ц$ – закупочная цена 1 кг живой массы животного (руб.);

$Сф$ – выручка от реализации продуктов убоя или трупного сырья (руб.).

$$Уп \text{ (1-я опытная)} = 2 \times 18,4 \times 140 - 0 = 5152 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (2-я опытная)} = 2 \times 17,5 \times 140 - 0 = 4900 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (3-я опытная)} = 4 \times 15,6 \times 140 - 0 = 8736 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (контрольная)} = 11 \times 13,2 \times 140 - 0 = 20328 \text{ руб.}$$

2. Экономический ущерб от снижения прироста живой массы (Упр):

$$Упр = М \times (Впо - Вдо) \times Т \times Ц,$$

где $М$ – количество животных;

$Вдо$ – среднесуточный прирост живой массы до введения препарата (кг),

$Впо$ – среднесуточный прирост в период течения болезни (кг);

$Т$ – длительность течения болезни (дни);

$Ц$ – закупочная цена кг живой массы (руб.).

$$Упр \text{ (1-я опытная)} = 8 \times (0,25 - 0,15) \times 3,5 \times 140 = 392,0 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (2-я опытная)} = 8 \times (0,23 - 0,15) \times 3,8 \times 140 = 340,5 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (3-я опытная)} = 12 \times (0,22 - 0,15) \times 4,5 \times 140 = 529,2 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (контрольная)} = 27 \times (0,21 - 0,15) \times 5,9 \times 140 = 1338,1 \text{ руб.}$$

3. Общий (суммарный) экономический ущерб (Уо):

$$Уо = Уп + Упр,$$

где $Уп$ – экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя;

$Упр$ – экономический ущерб от снижения прироста живой массы.

$$Уо \text{ (1-я опытная)} = 5152 + 392,0 = 5544 \text{ руб.}$$

$$Уо \text{ (2-я опытная)} = 4900 + 340,5 = 5240,5 \text{ руб.}$$

$$Уо \text{ (3-я опытная)} = 8736 + 529,2 = 9265,2 \text{ руб.}$$

$$Уо \text{ (контрольная)} = 20328 + 1338,1 = 21666,1 \text{ руб.}$$

4. Предотвращенный экономический ущерб при профилактике и ликвидации болезней животных (Пу):

$$Пу = М \times Кз \times Кпп \times Ц - Уо,$$

где М – число животных в стаде, группе (гол.);
 Кз – коэффициент заболеваемости (0,27);
 Кпп – коэффициент потери продукции (0,4);
 Ц – закупочная цена кг живой массы (руб.);
 Уо – суммарный экономический ущерб.

Для определения предотвращенного ущерба на основании данных контрольной группы рассчитывали коэффициенты заболеваемости, летальности и потери продукции.

5. Коэффициент заболеваемости:

$$Кз = Мз / М,$$

где Мз – количество заболевших животных;
 М – число животных в группе, стаде и т. п.

$$Кз = 55 / 220 = 0,25.$$

6. Коэффициент потери продукции:

$$Кпп = Вп / Мз,$$

где Вп – количество потерянной продукции (кг);
 Мз – количество заболевших животных (переболевших, павших).

7. Количество потерянной продукции:

$$Вп = (Мп \times Ж) + Т \times Мпб \times (Вз - Вб),$$

где Мп – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);
 Мпб – количество переболевших животных (гол.);
 Ж – средняя живая масса одного животного (кг);
 Т – время наблюдения или болезни (дни);
 Вз – среднесуточный прирост живой массы здоровых животных (кг);
 Вб – среднесуточный прирост живой массы заболевших животных (кг).

$$\text{Вп} = (19 \times 13,2) + 5,9 \times 55 \times (0,25 - 0,15) = 250,8 + 32,4 = 283,2 \text{ кг.}$$

$$\text{Кпп} = 283,2 / 55 = 5,1 \text{ кг.}$$

Таким образом, можно рассчитать предотвращенный экономический ущерб:

$$\text{Пу (1-я опытная)} = 55 \times 0,25 \times 5,1 \times 140 - 5544 = 4273,5 \text{ руб.}$$

$$\text{Пу (2-я опытная)} = 55 \times 0,25 \times 5,1 \times 140 - 5240,5 = 4577 \text{ руб.}$$

$$\text{Пу (3-я опытная)} = 55 \times 0,25 \times 5,1 \times 140 - 9265,2 = 552,3 \text{ руб.}$$

$$\text{Пу (контрольная)} = 55 \times 0,25 \times 5,1 \times 140 - 21666,1 = -11848,6 \text{ руб.}$$

8. Экономический эффект:

$$\text{Эв} = \text{Пу} + \text{Дс} - \text{Зв},$$

где Эв – экономический эффект;

Пу – предотвращенный экономический ущерб;

Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения продукции;

Зв – затраты на ветеринарные мероприятия.

Дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции:

$$\text{Дс} = (\text{Вп.о.} - \text{Вп.э.}) \times \text{Ан},$$

где Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции;

Вп.о. – стоимость произведенной или реализованной продукции при применении различных ветеринарных профилактических схем;

Вп.э – стоимость произведенной продукции телят без лечения;

Ан – число обработанных животных.

Привесы живой массы у поросят в опытных группах, где применяли испытуемые препараты, составляли 0,25, 0,23 и 0,22 кг соответственно. У поросят контрольной группы – 0,21 кг. Привесы больных эшерихиозом животных составляли 0,15 кг. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$\text{Дс (1-я опытная)} = (35 - 21) \times 55 = 770 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (2-я опытная)} = (32,2 - 21) \times 55 = 616 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (3-я опытная)} = (30,8 - 21) \times 55 = 539 \text{ руб.}$$

$$\text{Дс (контрольная)} = (29,4 - 21) \times 27 = 226,8 \text{ руб.}$$

9. Затраты на проведение ветеринарных мероприятий:

$$Зв = (З_1 + З_2) \times M_1 + (З_1 + З_2) \times M_2,$$

где M_1 – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам (поросята);
 M_2 – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам (свиноматки);
 $З_1$ – затраты на лечебно-профилактические препараты, на одну голову;
 $З_2$ – затраты на шприцы, иглы и инъекцию на одну голову.

Согласно схемам профилактики на одну супоросную свиноматку и одного поросенка в 1-й и 2-й опытных группа было потрачено 10,75 мл препарата и использовано четыре шприца для инъекции. У животных в 3-й опытной группе было израсходовано 12,5 мл вакцины и четыре шприца для инъекции. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Зв (1\text{-я опытная}) = (2,6 + 21) \times 55 + (35 + 21) \times 5 = 1298 + 280 = 1578 \text{ руб.}$$

$$Зв (2\text{-я опытная}) = (2,3 + 21) \times 55 + (30 + 21) \times 5 = 1281,5 + 255 = 1536,5 \text{ руб.}$$

$$Зв (3\text{-я опытная}) = (5 + 21) \times 55 + (20 + 21) \times 5 = 1430 + 205 = 1635 \text{ руб.}$$

$$Зв (\text{контрольная}) = 0 \text{ руб.}$$

Таким образом, можно рассчитать экономический эффект:

$$Эв (1\text{-я опытная}) = 4273,5 + 770 - 1578 = 3465,5 \text{ руб.}$$

$$Эв (2\text{-я опытная}) = 4577 + 616 - 1536,5 = 3656,5 \text{ руб.}$$

$$Эв (3\text{-я опытная}) = 552,3 + 539 - 1635 = - 543,7 \text{ руб.}$$

$$Эв (\text{контрольная}) = - 11848,6 + 226,8 - 0 = - 7463,2 \text{ руб.}$$

10. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат:

$$Эр = Эв / Зв,$$

где $Эв$ – экономический эффект (руб.);

$Зв$ – затраты на проведение ветеринарных мероприятий (руб.).

$$Эр (1\text{-я опытная}) = 3465,5 / 1578 = 2,2.$$

$$Эр (2\text{-я опытная}) = 3656,5 / 1536,5 = 2,4.$$

$$Эр (3\text{-я опытная}) = - 543,7 / 1635 = - 0,33.$$

Таким образом, применение колианатоксина с адъювантными комплексами ЛПС и ПАК и колианатоксина с минерально-масляным адъювантом в профилактической схеме мероприятий при эшерихиозе поросят экономически выгодно. При этом профилактический эффект с экономической стороны выражен лучше у КА с ГОА и МА, который превышает эффективность колианатоксина с ЛПС и ПАК в 1,1 раза. Экономический эффект на 1 руб. затрат при профилактике эшерихиоза составил 2,4 руб. и 2,2 руб. соответственно.

На следующем этапе был проведен расчет экономической эффективности применения ассоциированной против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции при ее включении в схему лечебно-профилактических мероприятий при острых кишечных болезнях телят. Результаты экономических расчетов представлены в таблице 62.

Таблица 62 – Экономическая эффективность профилактических мероприятий при острых кишечных болезнях телят

Показатель	Опытная группа (вакцина ассоциированная)	Контроль положительный (вакцина ОКЗ)	Контроль отрицательный (интактные)
1	2	3	4
Количество животных в группе, гол.	25	25	25
Масса телят в группе (средняя), кг	48,2	46,4	40,6
Среднесуточный привес у животных по группе, г	620,3	580,4	520,4
Стоимость реализации живого веса за 1 кг (средняя), руб.	120,0		
Заболело животных, гол.	2	5	18
Пало животных, гол.	0	1	5
Предотвращенный экономический ущерб при профилактике, руб.	10887,4	6552,8	– 11508,6
Цена профилактических препаратов (за 1 мл), руб.	5,0	10,0	–

Продолжение таблицы 62

1	2	3	4
Затраты ветеринарные на препараты, шприцы, иглы на одну голову, руб.	4960	8450	17640
Экономический эффект, руб.	6587,4	– 1357,2	– 28889,4
Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат, руб.	1,3	0,16	– 1,64

1. Экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя (Уп):

$$Уп = Мп \times Ж \times Ц - Сф,$$

где Мп – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

Ж – средняя живая масса одного животного (кг);

Ц – закупочная цена 1 кг живой массы животного (руб.);

Сф – выручка от реализации продуктов убоя или трупного сырья (руб.).

$$Уп \text{ (контроль положительный)} = 1 \times 45,4 \times 120 - 1500 = 3898 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (контроль отрицательный)} = 5 \times 40,6 \times 120 - 3500 = 20860 \text{ руб.}$$

2. Экономический ущерб от снижения прироста живой массы (Упр):

$$Упр = М \times (Впо - Вдо) \times Т \times Ц,$$

где М – количество животных;

Вдо – среднесуточный прирост живой массы до введения препарата (кг),

Впо – среднесуточный прирост в период течения болезни (кг);

Т – длительность течения болезни (дни);

Ц – закупочная цена кг живой массы (руб.).

$$Упр \text{ (опытная)} = 2 \times (0,62 - 0,40) \times 3,8 \times 120 = 200,64 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (контроль положительный)} = 5 \times (0,58 - 0,40) \times 5,9 \times 120 = 637,2 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (контроль отрицательный)} = 18 \times (0,52 - 0,40) \times 6,7 \times 120 = 1736,64 \text{ руб.}$$

3. Общий (суммарный) экономический ущерб (Уо):

$$Уо = Уп + Упр,$$

где Уп – экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя;

Упр – экономический ущерб от снижения прироста живой массы.

$$У_0 \text{ (опытная)} = 0 + 200,64 = 200,6 \text{ руб.}$$

$$У_0 \text{ (контроль положительный)} = 3898 + 637,2 = 4535,2 \text{ руб.}$$

$$У_0 \text{ (контроль отрицательный)} = 20860 + 1736,64 = 22596,6 \text{ руб.}$$

4. Предотвращенный экономический ущерб при профилактике и ликвидации болезней животных (Пу):

$$Пу = М \times Кз \times Кпп \times Ц - У_0,$$

где М – число животных в стаде, группе (гол.);

Кз – коэффициент заболеваемости;

Кпп – коэффициент потери продукции;

Ц – закупочная цена кг живой массы (руб.);

У₀ – суммарный экономический ущерб.

Для определения предотвращенного ущерба на основании данных контрольной группы рассчитывали коэффициенты заболеваемости, летальности и потери продукции.

5. Коэффициент заболеваемости:

$$Кз = Мз / М,$$

где Мз – количество заболевших животных;

М – число животных в группе, стаде и т. п.

$$Кз = 25 / 75 = 0,3.$$

6. Коэффициент потери продукции:

$$Кпп = Вп / Мз,$$

где Вп – количество потерянной продукции (кг);

Мз – количество заболевших животных (переболевших, павших).

7. Количество потерянной продукции:

$$Вп = (Мп \times Ж) + Т \times Мпб \times (Вз - Вб),$$

где Мп – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

Мпб – количество переболевших животных (гол.);

Ж – средняя живая масса одного животного (кг);

Т – время наблюдения или болезни (дни);

Вз – среднесуточный прирост живой массы здоровых животных (кг);

Вб – среднесуточный прирост живой массы заболевших животных (кг).

$$Вп = (6 \times 40,6) + 6,7 \times 25 \times (0,62 - 0,40) = 243,6 + 36,8 = 280,4 \text{ кг.}$$

$$Кпп = 280,4 / 25 = 11,2 \text{ кг.}$$

Таким образом, можно рассчитать предотвращенный экономический ущерб:

$$Пу \text{ (опытная)} = 25 \times 0,33 \times 11,2 \times 120 - 200,6 = 10887,4 \text{ руб.}$$

$$Пу \text{ (контроль положительный)} = 25 \times 0,33 \times 11,2 \times 120 - 4535,2 = 6552,8 \text{ руб.}$$

$$Пу \text{ (контроль отрицательный)} = 25 \times 0,33 \times 11,2 \times 120 - 22596,6 = -11508,6 \text{ руб.}$$

8. Экономический эффект:

$$Эв = Пу + Дс - Зв,$$

где Эв – экономический эффект;

Пу – предотвращенный экономический ущерб;

Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения продукции;

Зв – затраты на ветеринарные мероприятия.

9. Дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции:

$$Дс = (Вп.о. - Вп.э.) \times Ан,$$

где Дс – дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции;

Вп.о. – стоимость произведенной или реализованной продукции при применении различных ветеринарных профилактических схем;

Вп.э – стоимость произведенной продукции телят без лечения;

Ан – число обработанных животных.

Привес живой массы у телят в опытной группе, где применяли ассоциированную вакцину, составил 0,62 кг. У животных положительного контроля привес живой массы равнялся 0,58 кг. У телят группы отрицательного контроля 0,52 кг. Привесы животных больных острыми кишечными болезнями составляли 0,4 кг. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Дс \text{ (опытная)} = (74,4 - 48) \times 25 = 660 \text{ руб.}$$

$$Дс \text{ (контроль положительный)} = (69,6 - 48) \times 25 = 540 \text{ руб.}$$

$$Дс \text{ (контроль отрицательный)} = (62,4 - 48) \times 18 = 259,2 \text{ руб.}$$

10. Затраты на проведение ветеринарных мероприятий:

$$Зв = (З_1 + З_2) \times M_1 + (З_1 + З_2) \times M_2,$$

где M_1 – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам;

M_2 – количество животных, подвергнутых лечебным обработкам;

$З_1$ – затраты на лечебно-профилактические препараты, на одну голову;

$З_2$ – затраты на шприцы, иглы и инъекцию, на одну голову.

Согласно схемам профилактики на одно животное (стельная корова и полученное от нее потомство) в опытной группе было потрачено 18 мл препарата и использовано четыре шприца для инъекции. У животных в положительном контроле было израсходовано на одно животное 13 мл вакцины и четыре шприца для инъекции. Заболевших животных опытной и контрольных групп лечили симптоматически, стоимость лечебной схемы составила 775 руб. на одно животное. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Зв \text{ (опытная)} = (90 + 42) \times 25 + (775 + 55) \times 2 = 3300 + 1660 = 4960 \text{ руб.}$$

$$\begin{aligned} Зв \text{ (контроль положительный)} &= (130 + 42) \times 25 + (775 + 55) \times 5 = \\ &= 4300 + 4150 = 8450 \text{ руб.} \end{aligned}$$

$$Зв \text{ (контроль отрицательный)} = 0 + (775 + 205) \times 18 = 17640 \text{ руб.}$$

Таким образом, можно рассчитать экономический эффект:

$$Эв \text{ (опытная)} = 10887,4 + 660 - 4960 = 6587,4 \text{ руб.}$$

$$Эв \text{ (контроль положительный)} = 6552,8 + 540 - 8450 = -1357,2 \text{ руб.}$$

$$Эв \text{ (контроль отрицательный)} = -11508,6 + 259,2 - 17640 = -28889,4 \text{ руб.}$$

11. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат:

$$Эр = Эв / Зв,$$

где $Эв$ – экономический эффект (руб.);

$Зв$ – затраты на проведение ветеринарных мероприятий (руб.).

$$Эр \text{ (опытная)} = 6587,4 / 4960 = 1,3.$$

$$Эр \text{ (контроль положительный)} = -1357,2 / 8450 = 0,16.$$

$$Эр \text{ (контроль отрицательный)} = -28889,4 / 17640 = -1,64.$$

Таким образом, применение ассоциированной вакцины в системе профилактических мероприятий острых кишечных болезней у телят экономически выгодно. Экономический эффект на рубль затрат составил 1,3 руб.

Для определения экономической эффективности ассоциированной вакцины в хозяйстве, длительно неблагополучном по острым кишечным заболеваниям поросят произвели следующие экономические расчеты, представленные в таблице 63.

Таблица 63 – Экономическая эффективность профилактических мероприятий при острых кишечных болезнях поросят

Показатель	Опытная группа (вакцина ассоциированная)	Контроль положительный (вакцина ОКЗ)	Контроль отрицательный (интактные)
Количество животных в группе, гол.	53	53	53
Масса поросят в группе (средняя), кг	17,2	16,4	12,6
Среднесуточный привес у животных по группе, г	320,3	280,4	210,4
Стоимость реализации живого веса за 1 кг (средняя), руб.	140,0		
Заболело животных, гол.	8	17	28
Пало животных, гол.	2	5	9
Предотвращенный экономический ущерб при профилактике, руб.	10485,7	3105,3	– 1115,2
Цена профилактических препаратов (за 1 мл), руб.	5,0	10,0	–
Затраты ветеринарные на препараты, шприцы, иглы на одну голову, руб.	4528,7	5340	–
Экономический эффект, руб.	7218,4	– 1270,1	– 880
Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат, руб.	1,6	– 0,2	–

1. Экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя (Уп):

$$Уп = Мп \times Ж \times Ц - Сф,$$

где $Мп$ – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

$Ж$ – средняя живая масса одного животного (кг);

$Ц$ – закупочная цена 1 кг живой массы животного (руб.);

$Сф$ – выручка от реализации продуктов убоя или трупного сырья (руб.).

$$Уп \text{ (опытная)} = 2 \times 17,2 \times 140 - 0 = 4816 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (контроль положительный)} = 5 \times 16,4 \times 140 - 0 = 11480 \text{ руб.}$$

$$Уп \text{ (контроль отрицательный)} = 9 \times 12,6 \times 140 - 0 = 15876 \text{ руб.}$$

2. Экономический ущерб от снижения прироста живой массы (Упр):

$$Упр = М \times (Впо - Вдо) \times Т \times Ц,$$

где $М$ – количество животных;

$Вдо$ – среднесуточный прирост живой массы до введения препарата (кг);

$Впо$ – среднесуточный прирост в период течения болезни (кг);

$Т$ – длительность течения болезни (дни);

$Ц$ – закупочная цена кг живой массы (руб.).

$$Упр \text{ (опытная)} = 8 \times (0,32 - 0,15) \times 4,2 \times 140 = 799,7 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (контроль положительный)} = 17 \times (0,28 - 0,15) \times 4,9 \times 140 = 1516,1 \text{ руб.}$$

$$Упр \text{ (контроль отрицательный)} = 28 \times (0,21 - 0,15) \times 5,7 \times 140 = 1340,6 \text{ руб.}$$

3. Общий (суммарный) экономический ущерб (Уо):

$$Уо = Уп + Упр,$$

где $Уп$ – экономический ущерб от падежа, вынужденного убоя;

$Упр$ – экономический ущерб от снижения прироста живой массы.

$$Уо \text{ (опытная)} = 4816 + 799,7 = 5615,7 \text{ руб.}$$

$$Уо \text{ (контроль положительный)} = 11480 + 1516,1 = 12996,1 \text{ руб.}$$

$$Уо \text{ (контроль отрицательный)} = 15876 + 1340,6 = 17216,6 \text{ руб.}$$

4. Предотвращенный экономический ущерб при профилактике и ликвидации болезней животных (Пу):

$$П_y = M \times K_z \times K_{пп} \times Ц - У_о,$$

где M – число животных в стаде, группе (гол.);

K_z – коэффициент заболеваемости;

$K_{пп}$ – коэффициент потери продукции;

$Ц$ – закупочная цена кг живой массы (руб.);

$У_о$ – суммарный экономический ущерб.

Для определения предотвращенного ущерба на основании данных контрольной группы рассчитывали коэффициенты заболеваемости, летальности и потери продукции.

5. Коэффициент заболеваемости:

$$K_z = M_z / M,$$

где M_z – количество заболевших животных;

M – число животных в группе, стаде и т. п.

$$K_z = 53 / 159 = 0,35.$$

6. Коэффициент потери продукции:

$$K_{пп} = В_п / M_z,$$

где $В_п$ – количество потерянной продукции (кг);

M_z – количество заболевших животных (переболевших, павших).

7. Количество потерянной продукции:

$$В_п = (M_п \times Ж) + T \times M_{пб} \times (В_з - В_б),$$

где $M_п$ – количество павших, убитых, уничтоженных животных (гол.);

$M_{пб}$ – количество переболевших животных (гол.);

$Ж$ – средняя живая масса одного животного (кг);

T – время наблюдения или болезни (дни);

$В_з$ – среднесуточный прирост живой массы здоровых животных (кг);

$В_б$ – среднесуточный прирост живой массы заболевших животных (кг).

$$В_п = (16 \times 17,2) + 5,7 \times 53 \times (0,32 - 0,15) = 275,2 + 51,4 = 326,6 \text{ кг.}$$

$$K_{пп} = 326,6 / 53 = 6,2 \text{ кг.}$$

Таким образом, можно рассчитать предотвращенный экономический ущерб:

$$П_u (\text{опытная}) = 53 \times 0,35 \times 6,2 \times 140 - 5615,7 = 10485,7 \text{ руб.}$$

$$П_u (\text{контроль положительный}) = 53 \times 0,35 \times 6,2 \times 140 - 12996,1 = 3105,3 \text{ руб.}$$

$$П_u (\text{контроль отрицательный}) = 53 \times 0,35 \times 6,2 \times 140 - 17216,6 = -1115,2 \text{ руб.}$$

8. Экономический эффект:

$$Э_v = П_u + Д_c - З_v,$$

где $Э_v$ – экономический эффект;

$П_u$ – предотвращенный экономический ущерб;

$Д_c$ – дополнительная стоимость за счет увеличения продукции;

$З_v$ – затраты на ветеринарные мероприятия.

9. Дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции:

$$Д_c = (В_{п.о.} - В_{п.э.}) \times A_n,$$

где $Д_c$ – дополнительная стоимость за счет увеличения количества продукции;

$В_{п.о.}$ – стоимость произведенной или реализованной продукции при применении различных ветеринарных профилактических схем;

$В_{п.э.}$ – стоимость произведенной продукции телят без лечения;

A_n – число обработанных животных

Привес живой массы у телят в опытной группе, где применяли ассоциированную вакцину, составил 0,32 кг. У животных положительного контроля привес живой массы равнялся 0,28 кг. У телят группы отрицательного контроля 0,21 кг. Привесы животных больных острыми кишечными болезнями составляли 0,15 кг. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Д_c (\text{опытная}) = (44,8 - 21) \times 53 = 1261,4 \text{ руб.}$$

$$Д_c (\text{контроль положительный}) = (39,2 - 21) \times 53 = 964,6 \text{ руб.}$$

$$Д_c (\text{контроль отрицательный}) = (29,4 - 21) \times 28 = 235,2 \text{ руб.}$$

10. Затраты на проведение ветеринарных мероприятий рассчитывается по формуле:

$$З_v = (З_1 + З_2) \times M_1 + (З_1 + З_2) \times M_2,$$

где M_1 – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам (свиноматки);

M_2 – количество животных, подвергнутых профилактическим обработкам (поросята);

Z_1 – затраты на профилактические препараты, на одну голову;

Z_2 – затраты на шприцы, иглы и инъекцию, на одну голову.

Согласно схемам профилактики на одну супоросную свиноматку и поросята в опытной группе было потрачено 10,75 мл препарата и использовано четыре шприца для инъекции. У животных в положительном контроле было израсходовано 6 мл вакцины и четыре шприца для инъекции. Следовательно, расчеты осуществляли следующим образом:

$$Зв \text{ (опытная)} = (50 + 21) \times 5 + (3,75 + 75) \times 53 = 355 + 4173,7 = 4528,7 \text{ руб.}$$

$$\begin{aligned} Зв \text{ (контроль положительный)} &= (40 + 21) \times 5 + (20 + 75) \times 53 = \\ &= 305 + 5035 = 5340 \text{ руб.} \end{aligned}$$

$$Зв \text{ (контроль отрицательный)} = 0 \text{ руб.}$$

Таким образом, можно рассчитать экономический эффект:

$$Эв \text{ (опытная)} = 10485,7 + 1261,4 - 4528,7 = 7218,4 \text{ руб.}$$

$$Эв \text{ (контроль положительный)} = 3105,3 + 964,6 - 5340 = -1270,1 \text{ руб.}$$

$$Эв \text{ (контроль отрицательный)} = -1115,2 + 235,2 - 0 = -880 \text{ руб.}$$

11. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат:

$$Эр = Эв / Зв,$$

где $Эв$ – экономический эффект (руб.);

$Зв$ – затраты на проведение ветеринарных мероприятий (руб.).

$$Эр \text{ (опытная)} = 7218,4 / 4528,7 = 1,6.$$

$$Эр \text{ (контроль положительный)} = -1270,1 / 5340 = -0,2.$$

Таким образом, применение ассоциированной вакцины в системе профилактических мероприятий острых кишечных болезней у поросят экономически выгодно. Экономический эффект на 1 руб. затрат составил 1,6 руб.

4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эшерихиоз считается серьезной проблемой для животноводства, и по мере углубленных исследований патогенности возбудителя и механизмов развития болезни становятся ясны многочисленные аспекты, требующие дальнейшего изучения. Ветеринарный контроль над заболеванием остается сложной задачей из-за недостаточной эффективности существующих вакцин [7; 15; 149; 172; 188; 310; 426].

Традиционные методы профилактики, использующие специфические биологические средства, остаются наиболее популярными среди ветеринарных специалистов. Тем не менее, успешность этих подходов ограничена, что связано в первую очередь с качеством и эффективностью самих вакцин [50; 61; 232; 399; 459].

Необходимы новые исследования и разработки, чтобы улучшить защитные средства от эшерихиоза и обеспечить более надежную профилактику для здоровья животных. Это создает вызовы, которые ветеринария должна преодолеть для поддержания здоровья поголовья и обеспечения его продуктивности.

В результате анализа проведенных лабораторных исследований следует, что эшерихиозная инфекция у телят и поросят регистрируется ежегодно и отличается стационарностью. Эти данные согласуются с ранее проведенными исследованиями В. И. Тереховым [184] и А.В. Скориковым [150], которые подтверждают регулярное неблагополучие Краснодарского края по эшерихиозной инфекции крупного рогатого скота и свиней.

Однако нами установлено, что количество положительных проб, выделенных патогенных эшерихий от павших животных, имеет тенденцию к снижению. По нашему мнению, это связано не только с улучшением технологий выращивания, ветеринарно-санитарного состояния мест содержания животных и проведением эффективных специфических противоэпизоотических мероприятий, а также с другими объективными и субъективными факторами. В качестве объ-

эффективных причин можно выделить тенденцию к снижению общего количества поголовья животных в крае, что в частности характерно для поросят, связанное с проведением мероприятий по ликвидации африканской чумы свиней. В других случаях, кишечная инфекция, как правило, воспринимается как вторичная, возникающая на фоне основных бактериальных и вирусных агентов, которая контролируется чаще всего антибиотиками, приводя к появлению новых антибиотикорезистентных штаммов. При этом лабораторные исследования проводятся в тех случаях, когда уже регистрируется массовый падеж и необходимо проводить лечебные мероприятия. В тоже время, несмотря на снижение количества проб, процент регистрации эшерихиоза у телят и поросят по данным лабораторных исследований в среднем за последние 5 лет остается достаточно высоким – 18,4–36,7 %. Кроме того, эшерихиозная инфекция имеет особенность периодически проявляться скачками болезни в среднем каждые 3–5 лет. В этом случае объяснением может являться смена актуальных серотипов патогенных кишечных палочек, выделенных от павших телят и поросят, несоответствие антигенного состава вакцин и нерегулярная вакцинация в эти годы. Учитывая сложившуюся эпизоотическую обстановку в Краснодарском крае по эшерихиозу телят и поросят, необходимо проводить регулярный мониторинг патогенных кишечных палочек среди поголовья, поддерживать на должном уровне ветеринарно-санитарное состояние животноводческих хозяйств и изыскивать эффективные, безопасные и экологически чистые методы контроля возбудителя эшерихиозной инфекции [151; 216].

Кроме того, при анализе состава микроорганизмов, полученных из патологического материала при острых кишечных заболеваниях, установили, что на территории Краснодарского края в развитии диарей у новорожденных телят и поросят принимают участие бактерии, принадлежащие к таким семействам как *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*, а ведущая роль в этиологии острых кишечных заболеваний у телят и поросят принадлежит энтеробактериям, энтерокок-

кам и стрептококкам. При этом среди энтеробактерий, выделенных как от телят, так и поросят, доминирующим видом являлся *E. coli* (55,6 %), стрептококков – *S. bovis* (24,9 %), энтерококков – *E. faecium* и *E. faecalis* (88,3 %). Несмотря на то, что по частоте выделений *E. coli* занимает абсолютно преобладающее положение, а также наличия у нее разнообразных факторов патогенности и антибиотикорезистентности [260; 261; 354; 420], тем не менее, констатировать ее исключительную роль в развитии острых расстройств пищеварения у телят и поросят не совсем корректно. Практически всегда одновременно с *E. coli* выделяются бактерии, принадлежащие к родственному семейству или другим семействам, которые могут, как самостоятельно участвовать в развитии кишечных заболеваний животных, так и осложнять их [14; 173].

Немаловажным является не только изучение наличия эпизоотически значимых возбудителей эшерихиоза и других возбудителей острых кишечных болезней, но и анализ их вирулентности. При этом, как показали собственные исследования и сообщения других авторов [172; 182], на *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *C. freundii* приходится более половины всех случаев выделения энтеробактерий из патологического материала от телят при диареях. Данное обстоятельство может косвенно свидетельствовать о наличии у *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *C. freundii* определенного патогенного потенциала и антагонистических свойств, обеспечивающих им преимущество не только в отношениях с другой кишечной микрофлорой, но и макроорганизмом.

В патогенезе развития микробной диареи лежат сложные взаимоотношения между микро- и макроорганизмом, реализация которых осуществляется в основном за счет наличия у возбудителя способности к адгезии, мембрано-атакующему и цитолитическому эффекту, а также способности противостоять факторам защиты хозяина [145; 158].

Наибольшее количество штаммов, обладающих различными патогенными свойствами, выявлено у эшерихий, что дает основание считать их основной этиологической структурой в развитии кишечной инфекции у новорожденных

телят. В тоже время распространенность среди энтеробактеров, клебсиелл и цитробактеров токсинообразующих вариантов дает основание относить эти микроорганизмы к разряду этиологически значимых и факт их присутствия в патологическом материале следует учитывать при разработке мероприятий при острых кишечных заболеваниях [173].

При изучении взаимосвязи адгезивных и токсигенных свойств кишечной палочки, установили, что среди патогенных *E. coli*, изолированных от павших телят и поросят с диареями, только 67 % вариантов имеют фимбриальные факторы адгезии [183]. Данное обстоятельство не является необычным: известно, что у энтеропатогенных, энтерогеморрагических, энтероагрегативных, энтеро-инвазивных и диффузноадгезивных *E. coli* адгезия к эпителиальным клеткам кишечника обеспечивается за счет нефимбриальных структур – специфических белков AIDA-1 (белок, участвующий в диффузном присоединении), Раа (белок, обеспечивающий эффект прикрепления и стирания у свиней), ЕАЕ (белок, обеспечивающий эффект прикрепления и стирания) [257; 290; 294; 391; 459].

Нами установлено [427], что встречаются варианты кишечной палочки, несущие на своей поверхности фимбрии I типа (чаще выделенные от телят) либо фимбрии II типа (чаще выделенные от поросят). В свою очередь обнаруживались штаммы, где присутствовали одновременно и общие, и специфические адгезины, их количество среди патогенных возбудителей, вызывающих диареи у молодняка крупного рогатого скота и свиней, составило от 5,9 до 13,4 %.

По данным ряда авторов, для изолятов *E. coli* – возбудителей эшерихиоза телят, характерны адгезины K99, F41, F92b, F210, Att25. При этом указывается, что наиболее часто диарею у телят обуславливают *E. coli* с адгезином K99, поскольку данная разновидность кишечной палочки выявляется в 70 % случаев [152; 264]. В тоже время в наших исследованиях установлено, что от телят с диареями чаще выделяют *E. coli* с адгезином A20 (37,5 % случаев), а кишечные палочки с адгезином K99 встречаются реже (25,0 % случаев).

У эшерихий, вызывающих заболевание поросят, наиболее часто регистрируют наличие адгезинов K88 и 987P. Среди патогенных *E. coli*, выделенных нами от поросят, получен идентичный результат, а именно изолятов с адгезивным антигеном K88 было 42,9 %, а с антигеном 987 P – 19,0 % [183].

Также установили у 56 % штаммов, выделенных от телят и поросят, имеется корреляция факторов адгезии с генетическими маркерами продукции экзотоксинов, при этом LT чаще регистрировали у адгезинпозитивных *E. coli* (17,6 %), и STX 2 типа у адгезиннегативных (11 %). Установлено, что среди адгезинпозитивных эшерихий, обладающих несколькими маркерами экзотоксинов, чаще присутствуют гены LT и STX 2 типа [427].

Учитывая полученные данные, можно сделать предварительные заключения, что диареегенная кишечная палочка, обладает мультифакторной патогенностью, обуславливая более быстрое, тяжело протекающее и системное влияние на организм. Данный тезис поддерживается проведенными генетическими исследованиями и полногеномным секвенированием отдельных штаммов эшерихий. При этом установлено, что 50,36 % эшерихий обладали маркерами токсигенности, при этом ген термолабильного экзотоксина регистрировали чаще других (48,5 %), и большинство было зафиксировано у *E. coli*, выделяемых от поросят (29,4 %). У 19 изолятов (27,9 %) установили наличие генов, кодирующих выработку нескольких экзотоксинов [30; 76].

Значение LT, ST и STX экзотоксинов в патогенезе эшерихиоза телят и поросят подтверждается многочисленными исследованиями, зарубежных и отечественных авторов. Гены, кодирующие LT (*eltAB*), посредством плазмиды, могут передаваться непатогенным *E. coli*, превращая их в патогенные [14; 50; 61; 71; 158; 342; 387; 389; 402; 441]. Рядом исследований было установлено, что помимо основного своего свойства – нарушения внутриклеточного обмена натрия и хлора, ведущих к развитию водянистой диареи, LT улучшает первоначальную бактериальную адгезию и последующую колонизацию слизистой оболочки кишечника, а также проявляет адьювантную активность в отношении различных бактериальных, вирусных и грибных антигенов [294; 296; 320; 326; 327].

Считается, что ST является одним из главных секреторных экзотоксинов *E. coli*, вызывающих диарею, как у человека, так и у животных [65; 171; 288; 376]. Под действием токсина ST-II наблюдается снижение всасывающей способности слизистой оболочки кишечника по причине гибели поглощающих клеток и уменьшения высоты их ворсинок. Также было установлено, что при одновременном присутствии LT и ST происходит увеличение поступления воды в просвет кишечника сверх уровней, наблюдаемых под воздействием только одного из токсинов [68; 359].

Семейство шигаподобных токсинов включает два типа белков – STX 1 и STX 2, при этом STX 1 имеет три подтипа (a, c, d), а STX 2 – девять подтипов (a, b, c, d, e, f, g, h, i), определяющиеся нуклеотидными различиями, биологической активностью и серологической неоднородностью. При этом, от крупного рогатого скота и свиней чаще всего выделяются штаммы *E. coli* продуцирующие STX 1c, STX 1d, STX 2d, STX 2e, STX 2f [266; 378].

В наших исследованиях [30] по результатам ПЦР-анализа было выявлено наличие генов, отвечающих за синтез всех четырех групп токсинов у изолятов эшерихий KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU, B-923, KubGAU B-933 – термолабильного токсина LT, термостабильных токсинов ST-I и ST-II, шига-токсинов STX 1 и STX 2. В случае с образцом бактерий KubGAU B-533 были проявлены ДНК-маркеры только на наличие последовательностей, отвечающих за продуцирование токсинов LT и ST-II, а также шига-токсинов типа STX 1 и STX 2. Исследования, подтверждающие, что от одного животного могут быть выделены изоляты кишечной палочки, обладающие сразу несколькими генами токсинов, отражают в своих работах и другие авторы [326; 342; 402].

В свою очередь, аннотация генома при помощи NCBI PGAP показала наличие последовательностей в последовательностях ДНК, отвечающих за продуцирование токсинов: KubGAU, B-923 и KubGAU B-933 – шига-токсин STX 2e видов A и B, KubGAU B-533 и KubGAU B-546 – термолабильный энтеротоксин LT видов A и B, термостабильный энтеротоксин ST-II [30]. Кроме того,

полногеномное секвенирование показало, что выявленные на сегодняшний день диареегенные патотипы *E. coli* не являются статическими, вполне вероятно они пребывают в стадии динамического и продолжающегося смешивания генов вирулентности, а, следовательно, появления новых патогенных вариантов бактерии. Этот довод согласуется с проведенными нами исследованиями, установившими генетическое разнообразие изучаемых штаммов эшерихий, с наличием в их геноме цикломодулинов и ряда пороформирующих экзотоксинов, играющих важную роль в патогенезе эшерихиоза [326].

Так, субтилаза АВ, или субтилазный токсин (SubAB), представляет собой токсин типа АВ5, который вырабатывается шигатоксинпродуцирующей *E. coli*. До сих пор не известно, действуют ли STX и SubAB в синергизме или они противостоят друг другу. Эффекты SubAB были изучены на мышах при этом было установлено, что он вызывает повреждение микрососудов, тромбоз и некроз в мозге и печени. Кроме того, у мышей выявляли микроангиопатическую гемолитическую анемию, тромбоцитопению и нарушение функции почек характерные для гемолитико-уремического синдрома у людей [407; 412].

Порообразующие токсины (Pore-Forming Toxins; PFT) – это белки-мономеры, представляющие собой растворимые в воде молекулы, которые олигомеризуются на поверхности клетки-хозяина после связывания со специфическим рецептором (сахаром, липидом или белком). У патогенных *E. coli* было выявлено три вида порообразующих токсинов – колицины (Е1, В), гемолизин А (HlyA, α -гемолизин, RTX-токсин) и гемолизин Е [327; 433].

Колицины являются типичными α -PFT и обычно представляют собой крупные белки с высокой молекулярной массой (40–80 кДа). В настоящее время идентифицировано 25 различных представителей колицина, среди которых только колицины Е1, А, В, N, Ia, Ib, К, 5, 10 являются порообразующими и используются своими продуцентами для избирательного уничтожения других бактерий в микробном сообществе путем формирования отверстий в их внутренних мембранах. Наиболее изученными пороформирующими колицинами

являются колицины E1, A, B, N и Ia. Колицины вырабатываются штаммами *E. coli*, которые содержат одну колициногенную плазмиду pCol. Такие штаммы широко распространены в природе и особенно многочисленны в кишечнике животных [280].

Гемолизин A (HlyA, RTX) принадлежит к классу α -PFT и входит в семейство RTX токсинов. Продукт гена *hlyA* представляет собой белок, являющийся предшественником зрелого гемолизина A. М. Schwidder с соавторами [440] приводит сведения о распространении гена *hlyA* у различных изолятов *E. coli*. Как оказалось, частота регистрации *hlyA*-позитивных *E. coli* среди клинических изолятов, выделенных от человека и продуктивных животных, а также пищевых продуктов, колеблется в диапазоне от 12 до 96 %. При введения HlyA в кровяное русло сосудов брыжейки лабораторным животным у них отмечалось временное повышение артериального давления, падение кислорода, повышение уровня гемоглобина, а в слизистой оболочке кишечника наблюдался отек и разрушение [327].

Гемолизин E является представителем семейства цитолизина A класса α -PFT, вызывает гемолиз эритроцитов и влияет на передачу сигналов Ca^{2+} у эпителиальных клеток кишечника. Установлено, что полноценным геном гемолизина E обладают до 80 % *E. coli* и присутствует только у патогенных штаммов, проявляя цитотоксическую активность, опосредуя апоптоз макрофагов и способствуя бактериальной инвазии [346].

Ряд исследований подтверждают, что эшерихии, которые способны одновременно продуцировать более одного токсина, повышают вирулентность возбудителя и будут влиять на патогенез и клиническое проявление болезни [183; 311; 328; 429; 435].

Так, в наших исследованиях [25] при экспериментальной энтеротоксемии после введения крысам супернатантов, содержащих различные экзотоксины *E. coli*, основной клеточной мишенью крови являются лейкоциты, а в их пуле – лимфоциты. Количество данных клеток у подопытных животных уменьшается

почти в 3 раза по сравнению с интактными животными. Через 12 ч после введения токсинов уровень лейкоцитов начинает возрастать, а в его пуле увеличивается доля лимфоцитов и сокращается доля нейтрофилов. Однако, даже спустя 24 ч соотношение лимфоцитов и нейтрофилов остается диспропорциональным, несмотря на достаточно высокое содержание в крови подопытных животных лейкоцитов. Наиболее глубокие изменения происходили у животных, которым вводили смесь токсинов, что проявлялось не только лимфоцитопенией и нейтрофилией, но и моноцитозом и эозинофилией, что свидетельствует об инфекционном токсико-аллергическом процессе. Относительно красных кровяных телец – эритроцитов и тромбоцитов, то, как оказалось, они также подвержены повреждению токсинами кишечной палочки. Однако изменение количества этих клеток было зарегистрировано через 6 ч после введения токсинов. Эритропения и тромбоцитопения сопровождалась падением уровня гемоглобина и показателя гематокрита, что характерно для анемии. Наиболее выраженные изменения со стороны красных кровяных телец были зафиксированы спустя 24 ч после введения токсинов. Особенно они были выраженными у животных, которым вводили шигаподобный токсин и смесь токсинов.

Кроме того, реакция на введение культуральной среды, содержащей токсина *E. coli* развивается очень быстро и сохраняется в течение 24 ч, при этом основными провоспалительными сигналами в течение первых 6 ч являются ИЛ-6 и ФНО- α , которые продуцируются макрофагами/моноцитами, эндотелияцитами, миелоидными клетками и др., но не лимфоцитами, которые под действием гемолизина, STX и субтилазного токсина деградируют или тормозится их продукция, что хорошо просматривается в гематограмме. Через 12 ч после введения токсинов происходит увеличение количественного присутствия другого провоспалительного цитокина – ИЛ-2, который продуцируется Т-лимфоцитами и является своеобразным показателем их активации. Одновременно и параллельно с ИЛ-2 происходил рост количества противовоспалитель-

ного цитокина ИЛ-10, который, как известно, тормозит секрецию ИЛ-6 и ФНО- α , уменьшая их присутствие в сыворотке крови [25; 90, 402].

Сравнивая характер цитокинового ответа на введение различных токсинсодержащих материалов можно сделать заключение, что в меньшей степени он выражен у животных 1-й и 2-й групп, которым инъецировали культуральную среду, содержащую в основном цитотонические токсины (ST, LT) и гемолизины. В большей степени по величине и продолжительности цитокиновым выбросом характеризовался иммунный ответ у животных 3-й группы, которым ввели культуральную среду шигатоксинпродуцирующей *E. coli*. Но особенно мощным выброс провоспалительных цитокинов был установлен у крыс 4-й группы, которым ввели смесь культуральных сред трех токсигенных штаммов *E. coli*. Данное обстоятельство является доказательством того, что продуцируемые кишечной палочкой экзотоксины в своей совокупности могут усиливать свое патогенное действие на макроорганизм и это действие проявляется не только нарушением функции кишечного тракта, но и поражением других органов, вызывая в них воспалительные и дегенеративные изменения.

При изучении влияния экзометаболитов патогенных кишечных палочек на гистологическую картину внутренних органов и систем у кроликов установили характерные гистологические признаки, связанные с токсикоинфекциями патогенных *E. coli*, продуцирующими шигаподобные, термостабильные и термолабильные экзотоксины. Выявили разрушение микроворсинок в дистальных отделах тонкой и ободочной кишки, тромботическую микроангиопатию в почках, которая включала отек эндотелия, тромбоз в клубочковых капиллярах, отложение фибрина, мезангиолиз и повреждение канальцевого эпителия. Со стороны центральной нервной системы наблюдали периваскулярное сужение, воспаление мозговых оболочек, некроз нейронов и глиоз. Также отмечали патогистологические эффекты в виде токсической дистрофии печени и эмфиземы легких [200; 345].

Гистологические эффекты термолабильного токсина со стороны желудочно-кишечного тракта проявлялись разрушением микроворсинок, повышением секреции, а также микрососудистые изменения, приводящие к отекам, кровоизлияниям и воспалительным инфильтратам в слизистой оболочке кишечника [248; 430]. Термостабильные токсины могут вызывать морфологические изменения в слизистой оболочке кишечника, включая удлинение и дилатацию крипт, изменения в бокаловидных клетках и легкие воспалительные инфильтраты [311; 435].

В свою очередь для инфекций, вызываемых шигаподобными токсинами, характерно, что они связываются с рецепторами на эндотелиальных клетках почек, что приводит к повреждению эндотелия и последующему тромбозу. Гистологически это характеризуется отеком эндотелия клубочков, мезангиолизом, отложением фибрина и тромботической микроангиопатией, что может привести к острому некрозу канальцев и почечной недостаточности [61, 284, 378]. Кроме того, наблюдали осложнения со стороны центральной нервной системы, поскольку шигаподобные экзотоксины могут проникать через гематоэнцефалический барьер и поражать нейроны, вызывая их некроз, глиоз и воспаление, что согласуется с результатами наших исследований.

Повреждение печени характерно для энтеротоксигенных патотипов кишечных палочек, и включает дегенерацию гепатоцитов, вакуолизацию и перипортальное воспаление. При пневмонии кишечная палочка может вызывать повреждение альвеол, интерстициальное воспаление и бронхопневмонию [290; 294; 326].

Таким образом, специфические закономерности гистологического повреждения тканей указывают на механизмы взаимодействия различных патотипов кишечных палочек.

Поэтому при разработке специфических средств профилактики эшерихиоза, мы стали ориентироваться на создание и внедрение в практику анатоксинов, полученных путем культивирования токсигенных *E. coli* с последующей инаktivацией продуцированных ими экзотоксинов [34, 50, 104; 194; 195; 485].

Первоначально эта работа была начата в ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, где был разработан и исследован эшерихиозный анатоксин Я. М. Караевым [50]. Отличительной особенностью разработанного им анатоксина от аналогичных является наличие в его составе инактивированного шигаподобного токсина (STX), который обуславливает геморрагический энтероколит у телят и поросят и отёчную болезнь у поросят. При изучении данного препарата на лабораторных животных им было установлено, что он в значительной мере стимулирует фагоцитоз и гуморальное звено иммунитета, при этом специфические антитела в сыворотке крови хотя и появляются, однако их уровень незначителен, а время циркуляции непродолжительно [48; 49; 180].

Опираясь на полученные им результаты, нами были изучены секвенированные штаммы эшерихий на наличие соответствующих экзотоксинов в опытах на лабораторных животных и их влияние на показатели крови, фагоцитарную и микробицидную активность нейтрофилов.

Установили, при отсутствии патологического и токсического влияния на кровяные клетки первичное взаимодействие их с токсинами стимулировало увеличение количественного присутствия физиологически зрелых нейтрофилов, после чего наблюдали увеличение количества иммунокомпетентных лимфоцитарных клеток, что свидетельствует о выраженном антигенном и иммуностимулирующем воздействии на организм. По характеру и качеству клеточного ответа на антигенное раздражение наблюдали временную последовательность стадий иммунного ответа, которые развивались в течение первых 3–5-и суток, с последующей эффекторной фазой [194; 195; 197; 202; 207; 471]. Изучение активности фагоцитарного звена и микробицидных систем нейтрофилов при воздействии на них инактивированными токсинами кишечной палочки показали, что токсины кишечной палочки в целом активируют фагоцитарное звено иммунитета у вакцинированных крыс. При этом препарат, содержащий в совокупности LT, ST, STX-токсины *E. coli*, в течение первых суток после введения в 2 раза и более стимулирует фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоци-

тов по сравнению с применением токсинов по отдельности. Переваривающая и захватывающая способность нейтрофилов наиболее выражена на третьи сутки исследований, после чего происходит снижение функциональной активности клеток. Активность микробицидной системы нейтрофилов наиболее выражена в течение 24–72 ч, что отражалось в стимулирующем воздействии на кислород-зависимые системы (миелопероксидазу, хлорацетатэстеразу, NBT-теста) и кислородзависимую систему – катионные белки (в меньшей степени). При этом использование колианатоксина позволило не только добиться лучшего стимулирующего эффекта, но и сохранение у клеток мобилизационных способностей в ответ на введение антигенов [87; 194; 195; 196; 203; 206; 302; 470].

Однако стимулирующее действие непродолжительно и уровень защитного действия не высок. В связи с этим, инаktivированные экзотоксины эшерихий целесообразно применять с адьювантами, помощниками в усилении иммунного ответа на введение слабоиммуногенных антигенов [194; 195].

Между тем, в процессе изучения специфического биологического препарата важным является не только выяснение его действия на неспецифическое звено иммунной защиты организма, но и то, как он стимулирует гуморальное звено иммунитета, проявляющееся выработкой специфических антител [194; 195; 350].

Для обеспечения более напряженного и длительного иммунного ответа, а также повышения иммуногенных свойств инаktivированных токсинов кишечной палочки целесообразно их применять совместно с адьювантными веществами [3; 43; 81; 194; 195; 364; 458].

Для повышения иммуногенности в состав биопрепаратов, содержащих инаktivированные токсины *E. coli*, обычно вводят ГОА [364]. Однако в настоящее время известно большое количество адьювантов, отличающихся между собой не только по происхождению, но и механизму действия. В своих исследованиях нам предстояло выяснить, как влияют различные адьюванты на иммуногенные свойства КА и выбрать тот из них, который в наибольшей степени

стимулирует выработку специфических антител и обеспечивает их более длительную циркуляцию в организме животных.

В качестве адъювантов для поливалентного эшерихиозного анатоксина нами были испытаны – ГОА, полиакриловая кислота, липополисахарид и минеральное масло, которые являются представителями минеральных, полиэлектролитных, бактериальных и масляных адъювантов [194; 195].

ГОА является одним из самых распространенных адъювантов, используемых для приготовления вакцин, предназначенных для животных. В частности, для профилактики эшерихиозов выпускается гидроокисьалюминиевая формолвакцина – ОКЗ [241; 242] и Коли–Вак [130]. Авторы данных биопрепаратов в своих исследованиях показали эффективность ввода ГОА в состав вакцин, при этом ими было установлено, что усиливаются не только иммуногенные свойства антигенов, но и протективные свойства вакцинных препаратов [194; 195].

Полиакриловая кислота также рассматривается как один из перспективных адъювантов, поскольку установлено, что конъюгаты образуемые ею с растворимыми антигенами усиливают иммунный ответ в несколько раз [55; 154; 165]. Установлено, что ПАК относится к Т–независимым антигенам и ее применение совместно с Т–зависимыми растворимыми или корпускулярными антигенами всегда ведет к усилению иммунного ответа. В последнее время полиакриловая кислота стала привлекать внимание ветеринарных специалистов. Так уже имеются публикации, посвященные ПАК, которая использовалась в качестве адъюванта в вирус–вакцине [55] и самостоятельного препарата как иммуномодулятора [165].

В качестве бактериального адъюванта использовали препарат пирогенал – липополисахарид, образующийся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*. Данный препарат обладает адъювантным, десенсибилизирующим и противовоспалительным свойствами, ускоряет размножение клеток ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС), активирует функции

клеток фагоцитарной системы, ускоряет процесс образования антител, интерферона, активизирует ферментативную и гормональную системы, повышает общую и специфическую устойчивость организма [72; 164].

В качестве масляного адъюванта нами выбрана эмульгирующая система, представляющая собой раствор минерального масла марки «Маркол 52» и эмульгатора маннида моноалеата – Монтанид, в соотношении 90:10. Данный вид адъюванта используется у нас в стране для улучшения иммуногенности вирусных вакцин против ящура, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, болезни Ауески, болезни Гамборо и других болезней. Такие вакцины вызывают выраженный и продолжительный иммунитет [154; 165; 237; 281].

Исследования показали, что уже через 24 ч в сыворотке крови однократно иммунизированных КА крыс появляются специфические антитоксические антитела, но уровень их невысок. Однако в течение последующих пяти дней титр антител имел тенденцию к постепенному нарастанию. При этом установлено, что адъюванты способствовали более выраженной стимуляции антителообразования у животных, что выражалось увеличением в 1,2–1,4 раза количества антитоксических антител, чем после введения анатоксина без адъювантов.

Результаты опыта свидетельствовали, что при добавлении к КА адъювантов усиливается не только выработка, но и увеличивается время продуцирования антител. Если пик максимального подъема титра антител после введения нативного КА пришелся на 5-й день после введения, то после введения КА с ЛПС и ПАК – на 7-й день, КА с ГОА – на 14-й день, а КА с МА – на 21-й день.

После повторного введения КА установили дальнейшее повышение уровня антител. Наблюдаемый нами эффект вполне согласуется с результатами других авторов, изучавших действие различных вакцин, которые также отмечали, что после их повторного введения происходит увеличение концентрации специфических антител [18; 29; 34; 130; 194; 195; 232; 241; 242; 244; 399; 425].

При анализе полученных результатов было установлено, что использование в качестве адъювантов для КА ЛПС и ПАК является более предпочтительным, поскольку именно эти вещества в более короткие сроки, чем ГОА и МА, обеспечивают образование специфических антител у животных. Минеральный и масляный адъюванты также улучшают иммуногенность КА, однако формирование специфической иммунной защиты при их использовании происходит на 7–14-ть дней позже, чем при использовании ЛПС и ПАК.

Однако, появление специфических антител в высоких титрах после проведенной иммунизации, не всегда является свидетельством того, что может быть обеспечена защита организма от возбудителя или его токсина [43; 81; 135]. В связи с чем, нами были проведены исследования по выявлению протективности самого КА и КА с адъювантами. В этих исследованиях мы использовали только ЛПС и ПАК, так как именно эти адъюванты обеспечивали образование специфических антител в короткий (7 дн) промежуток времени. На модели экспериментальной токсемии было установлено, что протективность КА зависит от дозы и кратности иммунизации, а также от свойств используемого адъюванта. Так, однократная иммунизация, несмотря на появление в крови у мышей антитоксических антител, не обеспечила их защиту от токсинов *E. coli*. Между тем, после двукратного введения анатоксина и последующего заражения, животные выживали. При этом установили, что после иммунизации белых мышей КА с ЛПС титр защитных антител находился в пределах $7,8 \pm 0,4 \log_2$, что обеспечило выживаемость 100 % животных. У мышей, которых иммунизировали КА с ПАК, титр антител составил $7,2 \pm 0,3 \log_2$. В этой группе защитный эффект также составил 100 %. В группе мышей, которых дважды иммунизировали КА без адъювантов, выжило только 71,4 % животных, при этом уровень антител у них был в пределах $5,8 \pm 0,4 \log_2$. Следовательно, эшерихиозный анатоксин обладает протективными свойствами, однако при использовании его без адъювантов, они слабо выражены, так как уровень антител

к токсинам *E. coli* не достигают такого значения, чтобы обеспечить высокую сохранность животных при токсинемии [194; 195].

Исследования, проведенные на лабораторных животных, показали, что разные их виды по-разному реагируют на введение КА [54; 202; 205; 217]. Поэтому нам крайне необходимо было выяснить степень иммуногенности КА для сельскохозяйственных животных, а именно свиней и крупного рогатого скота.

Общеизвестным фактом является то, что эшерихиозом болевают преимущественно молодняк животных. При этом ряд исследователей констатируют о том, что основную роль в специфической профилактике эшерихиоза поросят и телят играет активная иммунизация супоросных свиноматок и стельных коров [18; 26; 130; 163; 241; 242; 244]. Данный факт объясняется тем, что эффективная защита новорожденных от инфекции зависит от полученных ими из молозива матери антител, так как собственная иммунная система еще не готова к нормальному функционированию, хотя способность синтезировать антитела может иметь место и в ранний постнатальный период [38; 58].

Следовательно, нам необходимо было выяснить степень иммуногенности КА для коров и свиноматок, а также оценить уровень колострального иммунитета у новорожденных телят и поросят, полученных от иммунизированных матерей.

Результаты опыта показали, что после введения КА супоросным свиноматкам и стельным коровам у них происходит выраженный иммунный ответ, проявляющийся выработкой специфических антител. Однако при этом нами установлены некоторые особенности, заключающиеся в следующем.

Более интенсивное антителообразование происходит в случае использования КА с адъювантами, которые способствовали повышению иммуногенности препарата в 1,2–2,5 раз.

Интенсивность накопления антител к токсинам *E. coli* зависит от дозы и кратности введения анатоксина. Оптимальной для использования на свиноматках была схема, состоящая из двукратного введения анатоксина в дозе 5 мл, а для коров – двукратного введения в дозе 5 и 10 мл.

Наилучшие адъювантные свойства проявил пирогенал нежели ПАК. После полного курса иммунизации свиноматок и коров КА с пирогеналом у них титр антител был в 1,2–2,1 раза большим, чем у животных, иммунизированных КА без адъювантов, и на 3,7–15,3% большим, чем у свиноматок и коров, иммунизированных КА с ПАК.

После родов в молозиве у свиноматок и коров имелись антитела к токсинам *E. coli*. Однако их уровень был значителен лишь у тех животных, которые были иммунизированы КА с адъювантами. Причем, чем выше был уровень антител в сыворотке крови, тем выше он был и в молозиве. Так, у свиноматок и коров, иммунизированных КА с адъювантами, титр молозивных антител к токсинам кишечной палочки был в 1,8–3,5 раз выше, чем у не иммунизированных животных.

Достаточно высокий титр молозивных антител предполагал создание напряженного и длительного колострального иммунитета у приплода. Действительно, при исследовании сыворотки крови у 2-дневных поросят и телят нами установлено, что у первых уровень антител к эшерихиозным токсинам был в 3,3–4,3 раз, а у вторых – в 1,4–1,8 раз выше, чем у их сверстников из контрольной группы. При этом следует отметить, что у поросят значения титров антител были в 1,2–1,6 раз меньшими, чем у телят, хотя в молозиве свиноматок и коров содержание специфических антител было примерно равным.

Данное обстоятельство может быть объяснено тем, что у поросят более интенсивно расходуются специфические антитела или в связи с низкой молочностью свиноматок, они в недостаточном объеме получали их из молозива.

Кроме того, исследования показали, что у поросят и телят разным было не только количество колостральных антител, но и продолжительность их циркулирования. У новорожденных поросят, полученных от иммунизированных свиноматок, защитный уровень антитоксических антител сохранялся в течение пяти дней, а к седьмым суткам их количество достигало лишь следовых концентраций и становилось равным у поросят из контрольной группы. У телят доста-

точно высокий уровень колостральных антител ($4,8 \pm 0,4$ – $6,0 \pm 0,6 \log_2$) сохранялся даже к седьмому дню жизни.

Учитывая данную биологическую особенность, следует полагать, что вакцинировать полученных от иммунизированных свиноматок поросят против энтеротоксигенного эшерихиоза следует на 5-й день после рождения, а телят – на 7-й день.

Проведенные опыты на супоросных свиноматках и стельных коровах показали, что после их иммунизации КА с ЛПС и ПАК развивается выраженный гуморальный иммунитет против токсинов кишечной палочки, а у родившегося приплода в течение первых дней жизни формируется колостральный иммунитет. Данное обстоятельство предопределило проведение клинических испытаний КА с целью профилактики эшерихиоза у новорожденных животных.

Используя оптимальные схемы иммунизации супоросных свиноматок и стельных коров нами было установлено, что КА с ЛПС и ПАК обладает выраженной профилактической активностью и может с успехом конкурировать с коммерческой вакциной против эшерихиоза животных «Коли-Вак». При этом следует отметить, что в случае использования КА с адъювантами наблюдали не только повышение сохранности новорожденных животных за счет более легкого переболевания их эшерихиозом, но и существенного (в 2,7–2,8 раза) снижения количества заболевших, что напрямую свидетельствует о профилактическом эффекте биопрепарата.

Кроме того, клинические испытания по использованию КА в качестве специфического средства для профилактики эшерихиоза у поросят и телят показали, что наиболее приемлемым в качестве адъюванта оказался пирогенал (липолисахарид грамотрицательных бактерий), так как при его использовании совместно с КА в группах животных была самая низкая заболеваемость (26,6–28,6 %) и самая высокая сохранность (93,4–96,1 %).

Таким образом, результаты проведенных нами исследований показали, что адъюванты в значительной мере повышают иммуногенность КА, что проявля-

ется более интенсивным антителообразованием. Между тем, различные адъюванты по-разному оказывали свое действие. Пирогенал и полиакриловая кислота обеспечивали формирование гуморального иммунитета через 7 дней после введения анатоксина, а гидроокись алюминия и масляный адъювант – через 14–21 день. И все же, время максимального подъема и уровень специфических антител показали, что для КА наиболее приемлемыми в качестве адъювантов являются бактериальный полисахарид и полиакриловая кислота [54; 151; 178; 194; 195; 199; 204; 205; 208].

Возможность усиления иммуногенной активности бактериальных антигенов комбинациями различных адъювантов описывается рядом исследователей. В нашем случае на первом этапе применили композицию из пирогенала и полиакриловой кислоты для усиления инактивированных токсинов кишечной палочки. В опытах на лабораторных животных Колианатоксин-ЛПС+ПАК уровень антител был выше в 1,1–1,2 раза, чем у животных в группах, которым препарат вводился с пирогеналом и полиакриловой кислотой по отдельности [2; 11; 118; 119].

Вакцинация животных колианатоксином в сочетании с ЛПС и ПАК обеспечила накопление колостральных антител у родившихся от них поросят и телят. Увеличение количественного состава и накопление специфических иммуноглобулинов в более высоких титрах происходило благодаря использованию комплексного токсидного препарата в сочетании с адъювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой при иммунизации супоросных свиноматок и стельных коров. Потенцирующий эффект лучше выражен в опытах на телятах, чем на поросятах, антителообразование происходит более интенсивно. В то же время уровень накопления антител достигает максимума в первые 7 дней после последнего введения препаратов, а в последующие дни постепенно снижается, что дает основание применять анатоксин в схемах, включающих вакцинацию беременных животных двукратную иммунизацию народившегося поголовья.

При изучении эффективности разработанного биопрепарата, содержащего анатоксин с адьювантным комплексом (пирогенал и раствор полиакриловой кислоты), сохранность у иммунизированных телят составила 100 % при защитном эффекте 92 %, у поросят – 96,4 % и 84,5 % соответственно [118; 119; 122; 141; 201; 210; 219; 222].

На втором этапе изучили влияние адьювантной минерально-масляной композиции на иммуногенность колианатоксина. В результате отметили повышение, как силы иммунного ответа, так и его продолжительность у телят и поросят после иммунизации колианатоксином в сочетании с композицией адьювантов. Защитный эффект в виде накопления антител регистрируется у поросят на протяжении 28 дней со снижением к 56-у дню. Максимальное значение уровня иммуноглобулинов отмечали, как у телят, так и у поросят соответственно на 7-й и 14-й день после последней иммунизации. Снижение динамики иммуногенности после 21 дня опыта составляло не более, чем в 1,2 раза у поросят. Когда как в других группах, где использовали адьюванты по-отдельности, зафиксировали снижение уровня накопления антител в 1,5 раза и более. Титр антител у телят находился в пределах $8,4-9,2 \log_2$. У свиней при применении Колианатоксина-ГОА+МА количество антител было в 1,2–1,6 раз больше, чем у поросят из остальных опытных групп, с титром защитных клеток не ниже $6,3 \log_2$ на всем протяжении исследований. При этом профилактическая эффективность препарата у телят составила 88 % при сохранности 100 %, а у поросят – 85,5 % и 96,4 % соответственно [123; 124; 125; 126; 127; 191; 193; 211].

Помимо кишечной палочки у молодняка крупного рогатого скота и свиней регистрируют стрептококкоз и энтерококковую инфекцию, которые вместе с эшерихиозом вызывают у животных смешанную инфекцию. Ассоциированное воздействие данных возбудителей приводит к высокой заболеваемости животных в стаде, отягощает протекание болезни, повышает процент смертельных случаев, что естественным образом сказывается на экономике ветеринарных мероприятий [173; 192]. В связи с этим разработали ассоциированную вакцину

против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят и изучили ее эффективность.

Стельных коров и супоросных свиноматок иммунизировали двукратно в различных дозах, с целью определить наилучшее сочетание количества биопрепарата на выработку антител после введения животным. В качестве положительного контроля использовали вакцину ОКЗ. После вакцинаций отбирали пробы сывороток крови у беременных и новорожденных животных, а также исследовали молозиво на наличие и количество специфических антител. Результаты исследований показали высокую иммуногенность новой вакцины. Иммунизация стельных коров за 30 и 20 дней до отела в дозе 5 и 10 мл позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:108–1:164, а у новорожденных телят, полученных от этих коров – 1:54–1:82. Иммунизация супоросных свиноматок за 30 и 20 дней до опороса в дозе 5 мл позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:96–1:144, а у новорожденных поросят, полученных от этих свиноматок – 1:48–1:72. Полученные данные позволяют предположить высокую профилактическую эффективность ассоциированной вакцины в отношении возбудителей острых кишечных болезней телят и поросят.

Профилактика острых кишечных заболеваний у свиней с использованием ассоциированной вакцины позволила снизить заболеваемость по сравнению с вакциной ОКЗ на 17,6 %, а в сравнении с группой отрицательного контроля – на 37,7 %, при этом падеж сократился в 2,5–4,5 раз, что свидетельствует о его высокой эффективности – 84,9 % при сохранности поросят в группе 96,2 %.

При применении ассоциированной вакцины у крупного рогатого скота острая кишечная инфекция была зарегистрирована у двух телят, при этом диарею у них удалось купировать в течение трех дней, а на 5-й день телята полностью выздоровели. Следовательно, профилактическая эффективность заявляемой вакцины составила 92 %, что позволило снизить заболеваемость по сравнению с аналогом на 12 %, а по сравнению с группой отрицательного

контроля – на 64 % и добиться сохранности телят до 100 %, в то время как сохранность во 2-й группе составила 96 %, а в 3-й – 80 % [77; 78; 79; 109; 114; 115; 116; 209; 212; 214; 218; 220].

Исходя из проведенных исследований, эшерихиозная инфекция телят и поросят, связана с диареегенной кишечной палочкой, которая обладает целым рядом факторов патогенности, прежде всего, экзотоксинами, обуславливающими системное патологическое воздействие на организм. В связи с этим разработка биопрепаратов для профилактики эшерихиоза должна осуществляться на основе экзотоксинов. По максимальному подъему и уровню специфических антител установлено, что для КА наиболее приемлемыми в качестве адъювантов являются композиции из бактериального полисахарида и полиакриловой кислоты, а также гидрата окиси алюминия и масляного адъюванта. Как показали ограниченные клинические испытания, применение КА с данными адъювантами в значительной мере сокращает заболеваемость и гибель новорожденных от эшерихиоза. Использование токсидного компонента *E. coli* в разработке ассоциированных вакцин также оправдана результатами профилактического эффекта при острых кишечных инфекциях телят и поросят. Следовательно, полученные данные могут служить обоснованием для возможного использования колианатоксина с адъювантными композициями для профилактики эшерихиоза и острых кишечных инфекций поросят и телят в хозяйствах, неблагополучных по данной болезни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие **выводы**:

1. Эшерихиоз в Краснодарском крае имеет широкое территориальное распространение, болезнь диагностируется ежегодно, количество положительных результатов лабораторных исследований находится в пределах 46,2–47,4 %. В динамике выявления болезни отчетливо просматривается ее волнообразный характер с пиками каждые 3–5 лет, эпизоотический процесс можно охарактеризовать как напряженный, отличающийся энзоотичностью и периодичностью.

2. На территории Краснодарского края в развитии диарей у новорожденных телят и поросят принимают участие бактерии, принадлежащие к таким семействам как *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*. Ведущая роль в этиологии острых кишечных заболеваний у телят и поросят принадлежит энтеробактериям, энтерококкам и стрептококкам, доля которых в общем пуле изолятов составила 70,1 %, 15,9 % и 11,1 % соответственно. При этом среди энтеробактерий, выделенных как от телят, так и поросят, превалирующим видом был *E. coli* (55,6 %), стрептококков – *S. bovis* (24,9 %), энтерококков – *E. faecium* и *E. faecalis* (88,3 %).

3. Патогенный потенциал у *E. coli* в 83,1 % составляют адгезивные свойства, при этом у 31,5 % адгезины представлены общими пиллями, количество гемолитических штаммов составило 42,7 %, а экзотоксинпродуцирующих – 43,8 %. Среди *Enterobacter cloacae* количество штаммов, обладающих подобными свойствами было – 65,5; 25,5; 23,6 и 41,8 %; *Klebsiella pneumoniae* – 78,3; 13,0; 34,8 и 30,4 %; *Citrobacter freundii* – 66,7; 23,3; 16,7 и 13,3 % соответственно.

4. У 61,8 % изолятов патогенных *E. coli*, выделенных от телят, и у 64,2 %, изолированных от поросят, обнаружили фимбриальные факторы адгезии. При этом у 52,4 % адгезинпозитивных изолятов, полученных от телят, адгезины

были представлены фимбриями I типа, в большинстве случаев это были антигены A20 (39,7 %) и K99 (25,0 %). У 48,8 % изолятов, полученных от поросят, адгезины были представлены фимбриями II типа, чаще всего K88 (43,3 %) и 987P (19,4 %). Более 50 % исследованных штаммов имеют гены токсинообразования, среди которых чаще всего встречается LT и STX 2 типа. У 56 % штаммов с маркерами экзотоксинов имеются факторы адгезии, а другие штаммы являются адгезиннегативными.

5. Генетическое разнообразие изолятов *E. coli*, выделенных от телят и поросят с диареей, представлено генами вирулентности синтеза термолабильного энтеротоксина (50 %) и шигаподобного токсину 2 типа (23,5 %). Четыре штамма эшерихий демонстрировали высокое генетическое разнообразие, обладая генами термолабильного токсина, термостабильного токсина ST-I, ST-II и шигаподобных токсинов 2 типа. Полногеномным секвенированием установили, что их патогенный потенциал штаммов *E. coli* также связан с наличием нуклеотидных детерминант субтилазного токсина AB5, колицина B, E1, V, токсина RTX α -гемолизина и гемолизина E. Были отобраны и депонированы четыре кандидатных вакцинных штамма – KubGAU B-533, KubGAU B-546, KubGAU B-923 и KubGAU B-933.

6. При экспериментальной энтеротоксемии после введения экзотоксинов у крыс в крови регистрировали лейкопению и лимфоцитопению. Через 12 ч на фоне увеличения доли лимфоцитов у крыс прогрессировала нейтрофилия, при этом у животных, которым вводили культуральную смесь из нескольких экзотоксинов, инфекционный процесс сопровождался токсико-аллергическим течением, что выражалось моноцитозом и эозинофилией. Со стороны клеток красных кровяных телец через 6 ч после заражения у крыс наблюдали эритропению и тромбоцитопению, с развивающимися признаками анемии к 24 ч наблюдений. Установили, что цитокиновый ответ в течение первых 6 ч характеризовался выработкой провоспалительных медиаторов – ИЛ-6 и ФНО- α , через 12 ч – ИЛ-2 и противовоспалительного ИЛ-10.

7. При моделировании смешанной токсикоинфекции эшерихиозного происхождения к особенностям клинического проявления следует отнести сочетание диарейного и невралгического синдрома. Патоморфологические изменения свидетельствовали о развитии различных патологических процессов, таких как дистрофия, атрофия, некроз, гиперемия, стаз, воспаление. При этом основными мишенями были не только эпителиальные клетки всего желудочно-кишечного тракта, но и почечный и альвеолярный эпителий, гепатоциты, мышечная ткань сердца и ткань головного мозга.

8. В ответ на введение колианатоксина у крыс изменения в крови проявлялись в виде эритроцитоза, нейтрофилии в первые сутки и последующим лимфоцитозом. Неспецифическое звено иммунитета у белых крыс выражалось повышением фагоцитарной активности в первые 24 ч и переваривающей способности нейтрофилов через 72 ч. Активность микробицидных систем нейтрофилов наиболее выражена у животных в течение 3 сут после иммунизации. Иммунизация животных колианатоксином способствовала потенцирующему действию на фагоцитарную активность нейтрофилов, что позволяет добиться активации кислородзависимых и кислороднезависимых ферментных систем нейтрофилов с сохранением их резервных возможностей.

9. После введения КА, антитела к токсинам *E. coli* появляются у животных уже через 24 ч, а пик их накопления происходит на 5-е сутки. Адьюванты не только активизируют гуморальный иммунный ответ на введение КА, но и увеличивают продолжительность продуцирования антител. Максимальный подъем уровня специфических антител при введении КА с ЛПС и ПАК происходит через 7 дней, при введении КА с ГОА – через 14 дней, а при введении КА с МА – через 21 день. При повторном введении анатоксина с адьювантами наиболее быстрое и высокое накопление антитоксических антител установили при использовании КА с ЛПС и ПАК.

10. Максимальный уровень специфических антител у иммунизированных свиноматок был установлен после двукратного применения КА с ЛПС и ПАК

в дозе 5 см³ (8,3 log₂ и 8,0 log₂ соответственно). При этом в молозиве у иммунизированных свиноматок уровень антител к токсинам *E. coli* был в 1,9–3,5 раз выше, чем у не иммунизированных. Наиболее эффективной схемой иммунизации коров анатоксином с ЛПС и ПАК была та, которая предусматривает двукратное введение в дозе 5 и 10 см³. При этом уровень антитоксических антител в молозиве этих животных в 1,2 раза выше, чем при иммунизации КА без адъювантов и 1,8–2,1 раза выше, чем у не иммунизированных коров.

11. Применение Колианатоксина-ЛПС+ПАК способствует увеличению количественного состава антител, как в молозиве у коров, так и в сыворотке крови новорожденных животных. Так, у поросят минимальным уровнем накопления колостральных антител был на 14-й день исследования 6,3 log₂, у телят на 7-й день – 7,4 log₂. При этом профилактический защитный эффект в отношении энтеротоксигенного эшерихиоза у телят, иммунизированных Колианатоксином-ЛПС+ПАК, составил 92 % со 100%-й сохранностью, а у поросят – 85,5 % при сохранности 96,4 %.

12. Применение комбинированного минерально-масляного адъюванта повышает иммуногенность инактивированных токсинов *E. coli*, что выражается в усилении антителообразования и продолжительности иммунного ответа у животных. Максимальное количество колостральных антител у телят регистрировали на 7-й день после вакцинации их матерей – 9,2 log₂, у поросят на 14-й день – 7,3 log₂ соответственно. По истечении 56 дней после введения Колианатоксина-ГОВА+МА титр антител у поросят оставался на уровне 6,3 log₂. При этом профилактическая эффективность препарата у телят составила 88 % при сохранности 100 %, а у поросят – 85,5 % и 96,4 % соответственно.

13. Двукратная вакцинация супоросных свиноматок за 30 и 20 дней и стельных коров за 30 и 15 дней до родов разработанной ассоциированной вакциной против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции позволяет формировать у них выраженный иммунный ответ в виде продуцирования специфических антител. Иммунизация супоросных свиноматок в дозе

5 см³ позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:96–1:144, а у новорожденных поросят, полученных от этих свиноматок – 1:48–1:72. Иммунизация стельных коров в дозе 5 и 10 см³ позволила обеспечить содержание у них в молозиве специфических антител в среднем в количестве 1:108–1:164, а у новорожденных телят, полученных от этих коров – 1:54–1:82. При этом профилактическая эффективность препарата у телят составила 92 % при сохранности 100 %, а у поросят – 84,9 % и 96,2 % соответственно.

14. Окупаемость ветеринарных мероприятий при использовании Колианатоксина-ЛПС+ПАК при профилактике эшерихиоза у телят составляет 2,6 руб., у поросят – 2,2 руб. на один рубль затрат. Экономическая эффективность профилактических мероприятий с применением Колианатоксина-ГОА+МА при эшерихиозе телят и поросят составляет соответственно 2,2 и 2,4 руб. на один рубль затрат. Окупаемость ветеринарных мероприятий при использовании ассоциированной вакцины при профилактике острых кишечных болезней телят и поросят составляет 1,3 и 1,6 руб. на один рубль затрат соответственно.

Исходя из полученных в ходе выполнения исследований результатов, были сделаны следующие **предложения производству**:

1. Для повышения иммунобиологической реактивности и предотвращения возникновения эшерихиозной инфекции иммунизировать стельных коров Колианатоксином-ЛПС+ПАК подкожно в область верхней трети шеи: первый раз – за 30 дней до отёла в дозе 5 см³, второй раз – за 15 дней до отёла в дозе 10 см³. Свиноматок иммунизировать в дозе 5 см³ внутримышечно в область основания ушной раковины: первый раз – за 30 дней до опороса, второй раз – за 20 дней до опороса. Для профилактики отечной болезни поросят иммунизировать дважды внутримышечно в области внутренней поверхности бедра: первый раз – в возрасте 14 дней в дозе 0,25 см³, а второй раз – через 7 дней в дозе 0,5 см³ (методические рекомендации).

2. Для повышения иммунобиологической реактивности и предотвращения возникновения эшерихиозной инфекции иммунизировать стельных коров Колианатоксином-ГОА+МА подкожно в область верхней трети шеи: первый раз – за 45 дней до отёла в дозе 5 см³, второй раз – за 15 дней до отёла в дозе 10 см³. Свиноматок иммунизировать Колианатоксином-ГОА+МА внутримышечно в область основания ушной раковины в дозе 5 см³: первый раз – за 40 дней до опороса, второй раз – за 15 дней до опороса. Для профилактики отечной болезни поросят иммунизировали дважды внутримышечно в области внутренней поверхности бедра: первый раз – в возрасте 21 дней в дозе 0,25 см³, а второй раз – через 7 дней в дозе 0,5 см³ (методические рекомендации).

3. Для повышения иммунобиологической реактивности и предотвращения возникновения острых кишечных инфекций стельных коров и нетелей прививать вакциной, ассоциированной против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции, дважды подкожно: первый раз – за 30 дней до отела в дозе 5 см³, а второй раз – за 15 дней до отела в дозе 10 см³; телят также прививать дважды: первый раз – в возрасте 15–20 дней в дозе 1 см³, а второй раз – через 10–15 дней в дозе 2 см³ соответственно. Супоросным свиноматкам вакцину вводить внутримышечно дважды в дозе 5 см³: первый раз – за 30 дней до опороса, а второй раз – за 20 дней до опороса; поросят прививать дважды: первый раз – в возрасте 15–17 дней в дозе 0,25 см³, а второй раз – в возрасте 28–30 дней в дозе 0,5 см³ соответственно (методические рекомендации).

Перспективы дальнейшей разработки темы исследований

В перспективе планируется продолжение исследований по применению разработанных иммунобиологических препаратов для профилактики эшерихиозной инфекции и ассоциированных кишечных болезней у молодняка крупного рогатого скота и свиней.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИКП	— адгезивно-инвазивная кишечная палочка
ГОА	— гидроокись алюминия
ДАКП	— диффузно-адгезивная кишечная палочка
КА	— колианатоксин
КАБ	— катионно-анионный баланс
КЛЖК	— короткоцепочечные летучие жирные кислоты
КМ	— коэффициент мобилизации
КОЕ	— колониеобразующая единица
ЛД50	— заражающая доза, обуславливающая гибель 50 % животных
ЛЖК	— летучие жирные кислоты
ЛИИ	— лейкоцитарный интоксикационный индекс
ЛПС	— липополисахарид (эндотоксин)
МА	— масляный адъювант
МОС	— маннанолигосахариды
МПБ	— мясопептонный бульон
НГ	— нейтрофильный гранулоцит
НСТ тест	— тест с нитросиним тетразолием
ОКЗ	— острые кишечные заболевания
ОЭ	— обменная энергия
ПАК	— полиакриловая кислота
ПАФ	— полный адъювант Фрейнда
ПБ	— питательный бульон
ПОД	— постотъёмная диарея
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
СВ	— сухое вещество
СЦИ	— средний цитохимический индекс
ФА	— фагоцитарная активность

ФОС	– фруктоолигосахариды
ФЧ	– фагоцитарное число
ШПЭАКП	– шигатоксин-продуцирующая энтероагрегативная кишечная палочка
ЭА	– эшерихиозный анатоксин
ЭАКП	– энтероаггрегативная кишечная палочка
ЭАТ	– эшерихиозный анатоксин
ЭГКП	– энтерогеморрагическая кишечная палочка
ЭИКП	– энтероинвазивная кишечная палочка
ЭПКП	– энтеропатогенная кишечная палочка
ЭТКП	– энтеротоксигенная кишечная палочка
AIDA	– адгезин, участвующий в диффузном прилипании <i>E. coli</i>
EHEC	– энтерогеморрагическая <i>E. coli</i>
EPEC	– энтеропатогенная <i>E. coli</i>
EspA	– ауотранспортный белок у EHEC и EPEC
ETEC	– энтеротоксигенная <i>E. coli</i>
LEE	– локус уничтожения энтероцитов (остров патогенности)
LT	– термолабильный токсин
MEFA	– мультиэпитопный слитый антиген
OMV	– везикулы внешней мембраны бактерий
sIgA	– секреторный иммуноглобулин класса А
ST	– термостабильный токсин
STEC	– шигатоксинпродуцирующая <i>E. coli</i>
STX	– шигаподобный токсин
VTEC	– веро-токсин <i>E. coli</i>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адьюванты при конструировании ассоциированных вакцин против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота / П. А. Красочко, Я. П. Яромчик, П. П. Красочко [и др.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2019. – № 35(35). – С. 90–99. – DOI 10.31073/vet_biotech35-11.
2. Алферов, Д. О. Биотехнология иммунобиологического препарата для профилактики токсигенного эшерихиоза / Д. О. Алферов, А. С. Тищенко // Интеллектуальный потенциал молодых ученых как драйвер развития АПК : материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых и обучающихся, Санкт-Петербург – Пушкин, 15–17 марта 2023 г. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2023. – С. 173–175.
3. Андреев, Ю. Ю. Адьюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин / Ю. Ю. Андреев, А. П. Топтыгина // Иммунология. – 2021. – Т. 42, № 6. – С. 720–729. – DOI 10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729.
4. Андреева, А. В. Коррекция энтеробиоценоза кишечника поросят в ранний постнатальный период развития / А. В. Андреева, Г. И. Баишева // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2013. – № 2(26). – С. 27–29.
5. Антигенный состав и патогенные свойства штаммов *E. coli*, изолированных от телят и поросят в Краснодарском крае / В. И. Терехов, Я. М. Караев, Н. В. Когденко, Н. В. Коткова // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2008. – № 4. – С. 6–8.
6. Арушанян, А. Я. Профилактика острых кишечных заболеваний новорожденных телят бактериальной этиологии с использованием метаболитных пребиотиков : дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Арушанян Артавазд Ягорович. – Краснодар, 2014. – 132 с.
7. Байдевятова, Ю. В. Эффективность различных схем терапии телят, больных колибактериозом / Ю. В. Байдевятова, Ю. А. Байдевятов // Ученые

записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 9–13.

8. Балышев, А. В. Микробный пейзаж телят при использовании новых лактулозосодержащих биологически активных добавок / А. В. Балышев // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2011. – № 69. – С. 315–319.

9. Бесклеточные пробиотики и синбиотики на их основе – инновационное направление в обеспечении эффективности современного животноводства / Л. А. Неминущая, И. В. Бобровская, Н. К. Еремец [и др.] // Ветеринарный врач. – 2013. – № 6. – С. 44–47.

10. Биотехнология : учебник для студентов вузов, обучающихся по специальностям 310700 – Зоотехния и 310800 – Ветеринария / И. В. Тихонов [и др.] ; под ред. Е. С. Воронина. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2005. – 474 с.

11. Биотехнология иммунобиологического препарата для профилактики токсигенного эшерихиоза / А. С. Тищенко, П. П. Яковенко, А. П. Седашев, А. В. Елисютикова // Вызовы и инновационные решения в аграрной науке : материалы XXVII Международной научно-производственной конференции, Майский, 12 апреля 2023 г. Т. 2. – Майский : Белгородский государственный аграрный университет имени В. Я. Горина, 2023. – С. 13–14.

12. Бондаренко, В. М. Генетические маркеры вирулентности условно-патогенных бактерий / В. М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 3. – С. 95–100.

13. Бондаренко, В. М. Наличие генов генотоксина, ассоциированных с *pks* островом патогенности, у пробиотического штамма *Escherichia coli* M-17 / В. М. Бондаренко, С. В. Фиалкина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 5. – С. 25–27.

14. Бондаренко, В. М. Термостабильные энтеротоксины условно патогенных представителей *Enterobacteriaceae* / В. М. Бондаренко, А. Р. Мавзютов, З. Г. Габибулин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1998. – № 3. – С. 104–107.

15. Боровой, В. Н. Генодиагностика патогенных эшерихий в Краснодарском крае / В. Н. Боровой, В. И. Терехов, Ю. Б. Шпонько // Генодиагностика инфекционных заболеваний : сборник тезисов 4-й Всероссийской научно-практической конференции. – Москва, 2002. – С. 323–324.
16. Бочкарева, В. В. Современные подходы к специфической профилактике и лечению неонатальной диареи поросят / В. В. Бочкарева // Ветеринария. – 2018. – № 2. – С. 14–17.
17. Васильев, Н. В. Энтеропатогенные инфекции в нозологическом профиле инфекционных болезней крупного рогатого скота в Ставропольском крае / Н. В. Васильев, Н. А. Ожередова // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – № 51. – С. 66–69.
18. Верховская, А. Е. Разработка и оценка эффективности вакцин КОМ-БОВАК-Р и КОМБОВАК-К : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Верховская Анна Евгеньевна. – Владимир, 2008. – 25 с.
19. Ветеринарно-санитарная обработка и дезинфекция объектов ветеринарного надзора : учебное пособие / сост. В. И. Терехов и др. – Краснодар, 2009. – 211 с.
20. Ветеринарные правила содержания крупного рогатого скота в целях его воспроизводства, выращивания и реализации [Электронный ресурс] : Приказ Минсельхоза России от 21 октября 2020 г. № 622. – URL : www.pravo.gov.ru (дата обращения: 29.10.2020, № 0001202010290032).
21. Ветеринарные правила содержания свиней в целях их воспроизводства, выращивания и реализации (с изм. на 6 сентября 2022 г.) [Электронный ресурс] : Приказ Минсельхоза России от 21 октября 2020 г. № 621. – URL : www.pravo.gov.ru (дата обращения: 12.10.2022, № 0001202210120027).
22. Влияние имактина на прирост массы тела, заболеваемость и сохранность телят / Н. Ю. Басова, М. А. Староселов, А. К. Схатум [и др.] // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 4–6. – DOI 10.48612/xbvm-tk38-z5zr.

23. Влияние препарата «Баскин-вет» на прирост массы телят и заболеваемость ОКБ / М. А. Староселов, Н. Ю. Басова, Е. В. Иванасова, В. В. Пачина // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 182–186. – DOI 10.34617/qa21-fh63.
24. Влияние различных адъювантов на иммуногенность компонентов вакцины против стрептококков группы В / А. Н. Суворов, Г. Ф. Леонтьева, Л. Ф. Мерингова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – С. 215–222.
25. Влияние экзотоксинов кишечной палочки на гематологические показатели и цитокиновый профиль в кровяном русле у крыс / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, А. Г. Кощаев [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2024. – № 6. – С. 71–81. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202406009.
26. Волков, И. А. Вакцинопрофилактика колибактериоза свиней / И. А. Волков // Ветеринария. – 2008. – № 4. – С. 14–16.
27. Волков, М. Ю. Комбинированный пробиотический препарат Бактистатин и его эффективность при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.23 / Волков Михаил Юрьевич. – Москва, 2006. – 39 с.
28. Волкова, М. В. Методы лечения и профилактики колибактериоза свиней / М. В. Волкова, Е. И. Гембицкая, В. Н. Ласкавый // Аграрная наука. – 2005. – № 12. – С. 23–25.
29. Галиакбарова, А. А. Выявление связи между иммуногенной и антигенной активностью вакцины против колибактериоза животных / А. А. Галиакбарова, М. К. Пирожков // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 200–209. – DOI 10.22363/2312-797X-2020-15-2-200-209.
30. Генетический потенциал токсигенных *Escherichia coli*, выделенных от телят и поросят / А. С. Тищенко, А. Г. Кощаев, А. В. Милованов [и др.] // Аграрный вестник Урала. – 2024. – Т. 24, № 8. – С. 1071–1081. – DOI 10.32417/1997-4868-2024-24-08-1071-1081.

31. Гукасян, Г. Г. Использование молочнокислых бактерий для профилактики и терапии желудочно-кишечных заболеваний поросят / Г. Г. Гукасян, М. Г. Габанова // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2011. – Т. 48, № 2. – С. 122–124.
32. Джупина, С. И. Профилактика колибактериоза или массовой желудочно-кишечной болезни приплода продуктивных животных / С. И. Джупина // Ветеринарная патология. – 2015. – № 4(54). – С. 3–9.
33. Дмитриенко, В. Г. Иммунопробиотик Ветом-1.1 при диспепсии поросят : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.01 / Дмитриенко Владимир Геннадьевич. – Санкт-Петербург, 2005. – 18 с.
34. Евглевский, Д. А. Лечебно-профилактические препараты на основе токсинпродуцирующих микроорганизмов для агропромышленного комплекса : дис. ... д-ра ветеринар. наук : 06.02.02 / Евглевский Дмитрий Анатольевич. – Щелково, 2015. – 352 с.
35. Ефимова, Л. В. Эффективные микроорганизмы в кормлении крупного рогатого скота и свиней / Л. В. Ефимова, Т. А. Удалова. – Красноярск : Красноярский НИИЖ Россельхозакадемии, 2011. – 100 с.
36. Жданова, И. Н. Колибактериоз крупного рогатого скота в Пермском крае: распространенность, источники возбудителя и его биологические особенности / И. Н. Жданова, В. В. Мокрушин, М. В. Кузнецова // Сельскохозяйственная биология. – 2022. – Т. 57, № 4. – С. 776–790. – DOI 10.15389/agrobiology.2022.4.776rus.
37. Завертнев, В. А. Влияние подкислителей на оптимизацию биохимических процессов у поросят / В. А. Завертнев, Г. В. Комлацкий // Наука и образование сегодня. – 2019. – № 8(43). – С. 27–30.
38. Зароза, В. Г. Эшерихиоз телят / В. Г. Зароза. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 239 с.
39. Иванов, А. И. Эпизоотология и этиология колибактериоза телят в Зауралье / А. И. Иванов, И. Б. Баймурзин // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2007. – № 6. – С. 69–70.

40. Иванов, О. В. Разработка комплекса профилактических мероприятий при ассоциативных инфекциях новорожденных телят / О. В. Иванов, Д. Ю. Костерин, Л. Э. Мельникова // Вестник АПК Верхневолжья. – 2020. – № 1(49). – С. 41–45. – DOI 10.35694/YARCX.2020.49/1.009.

41. Иванова, А. Б. Влияние пробиотиков на основе *Bac. subtilis* на микробиоценозы кишечника животных в норме и при патологии / А. Б. Иванова, А. Г. Ноздрин // Вестник КрасГАУ. – 2006. – № 11. – С. 141–143.

42. Изменения структуры слизистой тощей кишки поросят под влиянием эшерихий и их токсинов в эксперименте / В. И. Моргунова, Н. Душенин, Н. М. Алтухов [и др.] // Итоги и перспективы научных исследований по проблемам патологии животных и разработке средств и методов терапии и профилактики : материалы координационного совещания, Воронеж, 10–12 октября 1995 г. – Воронеж : Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук», 1995. – С. 269–271.

43. Иммунология / Е. С. Воронин, А. М. Петров, М. М. Серых, Д. А. Девришов. – Москва : Колос-пресс, 2002. – 408 с.

44. Иммунотерапия эшерихиоза животных / М. К. Пирожков, А. В. Моторыгин, С. В. Ленев [и др.] // Биология и биотехнология на службе охраны здоровья животных и человека : материалы национальной научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, Москва, 21 октября 2022 г. – Москва : Сельскохозяйственные технологии, 2022. – С. 104–109.

45. Инфекционные болезни животных : учебник / А. А. Сидорчук, Н. А. Масимов, В. Л. Крупальник [и др.] ; под ред. А. А. Сидорчука. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ИНФРА-М, 2017. – 954 с.

46. Использование пробиотика при формировании и коррекции микробиоты телят и поросят / А. А. Былгаева, М. П. Скрыбина, С. И. Парникова [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 12. – С. 31–37. – DOI 10.18411/2311-455X-201812-3137.

47. Кадырова, Д. В. Коррекция микробиоценоза кишечника телят в ранний постнатальный период развития / Д. В. Кадырова, А. В. Андреева, Р. Г. Насретдинов // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2012. – № 1. – С. 31–33.

48. Караев, Я. М. Влияние эшерихиозного анатоксина на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов / Я. М. Караев, В. И. Терехов // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : материалы I Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. – Краснодар, 2007. – С. 256–257.

49. Караев, Я. М. Динамика антителообразования у животных в ответ на введение эшерихиозного анатоксина / Я. М. Караев // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар, 2008. – № 41(7). – 6 с. – Режим доступа : <http://ej.kubagro.ru/2008/07/pdf/15.pdf>.

50. Караев, Я. М. Иммуногенные и протективные свойства эшерихиозного анатоксина : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Караев Ян Михайлович. – Краснодар, 2009. – 132 с.

51. Каральник, Б. В. Сравнительная оценка стабилизации эритроцитов для реакций пассивной гемагглютинации формальдегидом и ацетальдегидом / Б. В. Каральник, В. А. Шамардин, М. Ф. Шмутер // Вакцины и сыворотки. – Москва, 1973. – № 20. – С. 122.

52. Караулов, А. В. Клиническая иммунология / А. В. Караулов. – Москва : Медицинское информационное агентство, 1999. – 604 с.

53. Карцев, Н. Н. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика энтеротоксигенных и шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2011–2016 гг. : дис. ... канд. мед. наук : 03.02.03 / Карцев Николай Николаевич. – Оболенск, 2018. – 144 с.

54. Киященко, А. А. Иммуногенные свойства эшерихиозного полианатоксина при совместном использовании с масляным адъювантом / А. А. Киященко, А. Р. Белик, А. С. Тищенко // Вестник научно-технического творчества моло-

дежи Кубанского ГАУ : сборник статей по материалам научно-исследовательских работ : в 4-х т., Краснодар, 22–25 марта 2017 г. / сост. А. Я. Барчукова, Я. К. Тосунов ; под ред. А. И. Трубилина ; отв. ред. А. Г. Кощачев. – Краснодар : КубГАУ, 2017. – Т. 4. – С. 32–35.

55. Клюкина, Н. Д. Полиакриловая кислота как адъювант в противоящурной вакцине : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Клюкина Надежда Дмитриевна. – Владимир, 2007. – 24 с.

56. Ковальчук, Н. М. Эколого-микробиологический мониторинг эшерихиоза новорожденных телят в современных условиях Восточной Сибири / Н. М. Ковальчук ; Моск. гос. акад. ветеринар. мед. и биотехнол. – Москва, 2004. – 40 с.

57. Когденко, Н. В. Распространение и клиническое проявление колибактериоза телят в Краснодарском крае : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Когденко Наталья Владимировна. – Краснодар, 2001. – 136 с.

58. Коляков, Я. Е. Колибактериоз телят / Я. Е. Коляков, С. С. Гительсон, Л. С. Каврук. – Москва : Колос, 1970. – 224 с.

59. Компанченко, А. С. Колибактериоз (эшерихиоз) телят в Ростовской области: Эпизоотология, диагностика, профилактика, меры борьбы : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Компанченко Алексей Сергеевич. – Ставрополь, 2005. – 20 с.

60. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учебник для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – 3-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2002. – 591 с.

61. Коткова, Н. В. Экспериментальная колиэнтеротоксемия, обусловленная шигаподобным токсином *Escherichia coli* : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Коткова Наталья Валерьевна. – Краснодар, 2007. – 127 с.

62. Кощачев, А. Г. Влияние обезвреженных форм экзотоксинов кишечной палочки на гуморальные факторы защиты у животных / А. Г. Кощачев, В. И. Терехов, А. С. Тищенко // Ветеринария Кубани. – 2021. – № 3. – С. 15–16. – DOI 10.33861/2071-8020-2021-3-15-16.

63. Крюков, В. С. Проблемы питания поросят в послеотъёмный период / В. С. Крюков, С. В. Зиновьев // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2016. – № 1. – С. 26–52.
64. Кузьменко, А. М. Микробиоценоз кишечника и его коррекция при желудочно-кишечных заболеваниях новорожденных телят : дис... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Кузьменко Александр Михайлович. – Благовещенск, 2011. – 120 с.
65. Куликовский, А. В. Токсигенные эшерихии – актуальная проблема ветеринарии и медицины / А. В. Куликовский, А. Н. Панин, В. В. Соснина // Ветеринария. – 1997. – № 3. – С. 25–27.
66. Курятова, Е. В. Этиология возникновения гастроэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных в условиях Амурской области / Е. В. Курятова, М. В. Герасимова, О. Н. Тюкавкина [и др.] // Дальневосточный аграрный вестник. – 2018. – № 1(45). – С. 60–66.
67. Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика : справочник. В 3-х ч. / под ред. М. Х. Турьянова. – Вып. 9. – Москва : КАППА, 1995. – Ч. 1 – 110 с.; Ч. 2 – 112 с.; Ч. 3 – 144 с.
68. Лавренова, В. Вакцинопрофилактика бактериальных болезней свиней / В. Лавренова // Ценовик. Сельскохозяйственное обозрение. – 2020. – № 11. – С. 93–97.
69. Лазовский, В. А. Определение экономической эффективности ветеринарных мероприятий : рекомендации / В. А. Лазовский, Д. Д. Морозов. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 48 с.
70. Лактумин в рационах поросят-отъёмышей / В. М. Голушко, В. А. Рощин, С. А. Линкевич [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – 2020. – Т. 55, № 1. – С. 271–278.
71. Ленченко, Е. М. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных / Е. М. Ленченко, Е. А. Мансурова, А. В. Моторыгин // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – Т. 49, № 2. – С. 94–104.

72. Липополисахариды/эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации / Н. М. Гюлазян, О. Ф. Белая, В. А. Малов [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2014. – № 2. – С. 11–16.

73. Лиходед, В. Г. Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника / В. Г. Лиходед, В. М. Бондаренко. – Москва : ОАО «Издательство «Медицина», 2007. – 216 с.

74. Ломова, Ю. В. Изучение территориальных и временных границ эпизоотического проявления эшерихиоза телят по Рязанской области / Ю. В. Ломова, И. А. Кондакова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2. – С. 777.

75. Макавчик, С. А. Бактериальные болезни крупного рогатого скота, вызванные полирезистентными микроорганизмами (диагностика, лечение и профилактика) : дис. ... д-ра ветеринар. наук : 06.02.02 и 06.02.03 / Макавчик Светлана Анатольевна. – Санкт-Петербург, 2021. – 370 с.

76. Мартыненко, Я. Н. Влияние основных факторов патогенности кишечной палочки на развитие болезни при эшерихиозе / Я. Н. Мартыненко, А. С. Тищенко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2017 год, Краснодар, 25 апреля 2018 г. / отв. за вып. А. Г. Коцаев. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – С. 193–195.

77. Мартыненко, Я. Н. Применение ассоциированной вакцины с целью профилактики острых кишечных инфекциях у поросят / Я. Н. Мартыненко, В. И. Терехов, А. С. Тищенко // Наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения : материалы национальной научно-практической конференции, Воронеж, 26–27 ноября 2019 г. – Воронеж : Воронежский ГАУ, 2019. – С. 222–224.

78. Мартыненко, Я. Н. Совершенствование профилактики острых кишечных болезней у телят и поросят / Я. Н. Мартыненко, И. А. Родин, А. С. Тищенко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам 75-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР

за 2019 год, Краснодар, 2–16 марта 2020 г. / отв. за вып. А. Г. Кощачев. – Краснодар : КубГАУ, 2020. – С. 102–104.

79. Мартыненко, Я. Н. Эффективность специфической профилактики острых кишечных заболеваний у поросят / Я. Н. Мартыненко, А. С. Тищенко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам 74-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2018 год, Краснодар, 26 апреля 2019 г. / отв. за вып. А. Г. Кощачев. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – С. 112–114.

80. Меднова, В. В. Использование фитобиотиков в животноводстве (обзор) / В. В. Меднова, А. Р. Ляшук, В. С. Буяров // Биология в сельском хозяйстве. – 2021. – № 1(30). – С. 11–16.

81. Медуницын, Н. В. Вакцинология / Н. В. Медуницын. – Москва : «Трида-Х», 1999. – 272 с.

82. Медуницын, Н. В. Аллергия и вакцинация / Н. В. Медуницын // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 1. – С. 5–7.

83. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий / сост. Ю. Е. Шатохин, И. Н. Никитин, П. А. Чулков, В. Ф. Воскобойник. – Москва : МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, 1997. – 36 с.

84. Методы оценки функциональной активности гранулоцитов : методические рекомендации / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова, Г. А. Чудилова. – Краснодар, 1993. – 20 с.

85. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных / Д. И. Скородумов, В. В. Субботин, М. А. Сидоров, Т. С. Костенко. – Москва : ИзографЪ, 2005. – 656 с.

86. Микробиология и иммунология : учебное пособие / И. В. Сердюченко, А. А. Шевченко, А. Р. Литвинова [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – 78 с.

87. Микробицидные свойства нейтрофилов при взаимодействии с экзотоксинами кишечной палочки / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, А. В. Степаненко [и др.] // Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1-1(35). – С. 47–53.

88. Моторыгин, А. В. Этиологическая структура, морфофункциональная характеристика эшерихиоза телят : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Моторыгин Антон Валерьевич. – Москва, 2011. – 23 с.

89. Мусатова, Н. С. Эпизоотологические особенности энтеротоксемической формы эшерихиоза поросят / Н. С. Мусатова, А. С. Тищенко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам 72-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2016 год, Краснодар, 1 февраля 2017 г. – Краснодар : КубГАУ, 2017. – С. 107–110.

90. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы / И. И. Долгушин, Е. А. Мезенцева, А. Ю. Савочкина, Е. К. Кузнецова // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 1. – С. 9–38. – DOI 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38.

91. Нейтрофильные гранулоциты как регуляторы иммунитета / А. С. Беляева, Л. В. Ванько, Н. К. Матвеева, Л. В. Кречетова // Иммунология. – 2016. – Т. 37, № 2. – С. 129–133.

92. Нешумаева, Ю. В. Патогенез и совершенствование лечебных мероприятий при колибактериозе телят : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Нешумаева Юлия Викторовна. – Новочеркасск, 2013. – 23 с.

93. Никитин, Д. А. Зоогигиеническая оценка новых иммуномодуляторов и их применение при выращивании телят : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.05 / Никитин Дмитрий Анатольевич. – Чебоксары, 2012. – 19 с.

94. Новикова, Е. Н. Распространение колибактериоза свиней в Краснодарском крае / Е. Н. Новикова, А. С. Тищенко, Я. Н. Мартыненко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 136. – С. 201–210. – DOI 10.21515/1990-4665-136-029.

95. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Ч. 1 / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова, Г. А. Чудилова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 7, № 3. – С. 219–230.

96. Новый взгляд на профилактику острых кишечных инфекций у новорожденных поросят // Свиноводство. – 2023. – № 2. – С. 54.
97. Носова, Е. С. Энтерогеоморрагические штаммы *Escherichia coli*: биологические свойства, эпидемиологическая характеристика, методы лабораторной диагностики / Е. С. Носова, Л. П. Титов // Здоровоохранение (Минск). – 2011. – № 12. – С. 41–46.
98. О действии подкислителей на микрофлору желудочно-кишечного тракта телят / О. Ж. Хапцева, З. Ю. Хапцев, Е. А. Фауст [и др.] // Научная жизнь. – 2015. – № 2. – С. 103–109.
99. Общая характеристика адьювантов и механизм их действия (часть 1) / Н. А. Алпатова, Ж. И. Авдеева, С. Л. Лысикова [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 245–256. – DOI 10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256.
100. Общая эпизоотология : учебное пособие / И. В. Сердюченко, А. А. Шевченко, А. Р. Литвинова [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – 81 с.
101. Овсянников, Ю. С. Пробиотики в ветеринарии / Ю. С. Овсянников, Г. И. Тихонов, О. В. Голунова // Ветеринарная медицина. – 2009. – № 1–2. – С. 66–68.
102. Определитель бактерий Берджи : в 2-х т. / [Р. Беркли и др.] ; под ред. Дж. Хоулта [и др.] ; пер. с англ., под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. – 9-е изд. – Москва : Мир, 1997. – Т. 1. – 429 с.
103. Определитель бактерий Берджи : в 2-х т. / [Р. Беркли и др.] ; под ред. Дж. Хоулта [и др.] ; пер. с англ., под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. – 9-е изд. – Москва : Мир, 1997. – Т. 2. – 799 с.
104. Панькова, С. Ю. Разработка сред для выращивания кишечной палочки и способы получения колибактериозного анатоксина. Повышение продуктивности качеств, улучшения профилактики и лечения животных / С. Ю. Панькова, Н. В. Воробьева ; Курск. гос. с.-х. акад. – Курск, 2005. – Ч. 1. – С. 20–22.
105. Патент № 2043772 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/40. Способ получения сыворотки, антиадгезивной и антитоксической

против эшерихиоза сельскохозяйственных животных : № 93009805/13 : заявл. 25.02.1993 : опубл. 20.09.1995 / Малахов Ю. А., Тугаринов О. А., Пирожков М. К., Солодков В. С.

106. Патент № 2262529 С1 Российская Федерация, МПК С12N 1/10, С12Q 1/00, С12Q 1/10. Способ биотестирования токсигенности кишечной палочки : № 2003137265/13 : заявл. 23.12.2003 : опубл. 20.10.2005 / Терехов В. И., Шпонько Ю. Б., Боровой В. Н., Тельнов С. Н. ; заявитель Кубанский государственный аграрный университет.

107. Патент № 2342425 Российская Федерация, МПК С12N 1/20, С12Q 1/04. Способ приготовления питательной среды для накопления токсинов кишечной палочки : № 2007112764/13; заявл. 05/04/2007; опубл. 27.12.2008 / Терехов В. И., Караев Я. М., Русак Н. Ю., Терехова О. Б., Коткова Н. В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

108. Патент № 2372937 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108. Способ получения колибактериозной анатоксин-вакцины : № 2008112751/13 : заявл. 02.04.2008 : опубл. 20.11.2009 / Евглевский А. А., Евглевский Д. А., Смирнов М. А. ; заявитель ФГОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова».

109. Патент № 2429012 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/116, А61К 39/09, А61К 39/108. Способ изготовления ассоциированной вакцины против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят : № 2010131633/15 : заявл. 27.07.2010 : опубл. 20.09.2011 / Терехов В. И., Скориков А. В., Иванов А. В. [и др.] ; заявитель ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

110. Патент № 2432174 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, С12N 1/20, А61Р 1/00. Способ получения эшерихиозного анатоксина : № 2010131645/15 : заявл. 27.07.2010 : опубл. 27.10.2011 / Терехов В. И., Караев Я. М., Тищенко А. С. [и др.] ; заявитель ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

111. Патент № 2449290 С2 Российская Федерация, МПК G01N 33/556, G01N 33/569. Способ получения эритроцитарного антигенного диагностикума : № 2009129696/15 : заявл. 03.08.2009 : опубл. 27.04.2012 / Терехов В. И., Каравев Я. М., Тищенко А. С., Иванов А. В. ; заявитель ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

112. Патент № 2504386 С1 Российская Федерация, МПК А61К 35/14, А61К 31/19, А61Р 1/14. Препарат для профилактики диарей у новорожденных телят : № 2012154886/15 : заявл. 18.12.2012 : опубл. 20.01.2014 / Терехов В. И., Арушанян А. Я., Глущенко С. Г. ; заявитель ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

113. Патент № 2602201 С1 Российская Федерация, МПК А61D 99/00. Способ профилактики желудочно-кишечных болезней телят : № 2015132585/13 : заявл. 04.08.2015 : опубл. 10.11.2016 / Сашнина Л. Ю., Ерина Т. А. ; заявитель ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук» (ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии).

114. Патент № 2649831 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/00, А61К 39/09, А61К 39/108. Способ профилактики острых кишечных заболеваний у поросят : № 2017118737 : заявл. 29.05.2017 : опубл. 04.04.2018 / Терехов В. И., Тищенко А. С., Мартыненко Я. Н. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

115. Патент № 2650604 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/09, А61К 39/108, А61К 39/116. Способ профилактики острых кишечных заболеваний у телят : № 2017118739 : заявл. 29.05.2017 : опубл. 16.04.2018 / Терехов В. И., Тищенко А. С., Мусатова Н. С. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

116. Патент № 2650628 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/116. Способ получения вакцины ассоциированной против колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят : № 2017118742 : заявл. 29.05.2017 : опубл. 17.04.2018 / Терехов В. И., Тищенко А. С. ; заявитель

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

117. Патент № 2739305 С1 Российская Федерация, МПК А01К 1/00, А61L 9/14. Способ профилактики и лечения колибактериоза поросят : № 2020105773 : заявл. 06.02.2020 : опубл. 22.12.2020 / Петрова О. Г., Барашкин М. И., Усевич В. М. [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО Уральский ГАУ.

118. Патент № 2753410 С2 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, А61К 31/78. Способ получения анатоксин-вакцины против эшерихиоза животных : № 2020101538 : заявл. 14.01.2020 : опубл. 16.08.2021 / Терехов В. И., Тищенко А. С., Ратников А. Р. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

119. Патент № 2764600 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, А61К 31/739. Вакцина против эшерихиоза телят и поросят : № 2021106771 : заявл. 15.03.2021 : опубл. 18.01.2022 / Тищенко А. С., Терехов В. И. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

120. Патент № 2766249 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 31/739, А61К 31/78. Способ профилактики эшерихиоза у телят : № 2021106438 : заявл. 11.03.2021 : опубл. 10.02.2022 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Степаненко А. В. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

121. Патент № 2766549 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, А61К 31/739. Способ профилактики эшерихиоза у поросят : № 2021106288 : заявл. 10.03.2021 : опубл. 15.03.2022 / Терехов В. И., Тищенко А. С., Рогач К. И. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

122. Патент № 2804224 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/73, А61К 36/185, А61К 36/288. Способ профилактики диареи у новорожденных телят : № 2023112065 : заявл. 11.05.2023 : опубл. 26.09.2023 / Плешков В. А., Зубо-

ва Т. В. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия».

123. Патент № 2806810 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, С12N 1/20. Вакцина гидроокись алюминиевая масляная против эшерихиоза телят и поросят : № 2022129944 : заявл. 17.11.2022 : опубл. 07.11.2023 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Кощаев А. Г., Алферов Д. О. ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

124. Патент № 2813752 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, С12N 1/20. Способ получения гидроокись алюминиевой масляной вакцины против эшерихиоза телят и поросят : № 2022129945 : заявл. 17.11.2022 : опубл. 16.02.2024 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Кощаев А. Г. [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

125. Патент № 2813752 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108, А61К 39/39, С12N 1/20. Способ получения гидроокись алюминиевой масляной вакцины против эшерихиоза телят и поросят : № 2022129945 : заявл. 17.11.2022 : опубл. 16.02.2024 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Кощаев А. Г. [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

126. Патент № 2813771 С1 Российская Федерация, МПК А61К 39/108. Способ профилактики эшерихиоза у телят : № 2022129934 : заявл. 17.11.2022 : опубл. 16.02.2024 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Кощаев А. Г. [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

127. Патент № 2814593 С1 Российская Федерация, МПК А61D 99/00, А61К 39/108, А61К 39/116. Способ профилактики эшерихиоза у поросят : № 2022129936 : заявл. 17.11.2022 : опубл. 01.03.2024 / Тищенко А. С., Терехов В. И., Кощаев А. Г. [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина».

128. Патогенный потенциал энтеробактерий, выделенных от новорожденных телят при острых кишечных заболеваниях / Т. В. Малышева, А. С. Тищенко, Н. С. Мусатова, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 2. – С. 11–13.

129. Петрухин, М. А. Колибактериоз телят в Верхнем Приуралье / М. А. Петрухин, Н. Н. Шульга, Д. А. Желябовская // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 12. – С. 113–116.

130. Пирожков, М. К. Биологические препараты для специфической профилактики и терапии эшерихиоза животных : дис. ... д-ра. ветеринар. наук : 16.00.03 / Пирожков Михаил Константинович. – Москва, 2002. – 298 с.

131. Подкислитель «Вевовиталь» в комбикормах для молодняка свиней на выращивании / В. Н. Сурмач, В. Ф. Ковалевский, А. А. Сехин, О. Е. Жукова // Зоотехническая наука Беларуси. – 2009. – Т. 44, № 2. – С. 228–236.

132. Поздеев, О. К. Молекулярно-генетические основы патогенности энтеробактерий / О. К. Поздеев // Практическая медицина. – 2010. – Т. 41, № 2. – С. 84–88.

133. Поздеев, О. К. Энтеробактерии : руководство для врачей / О. К. Поздеев, Р. В. Фёдоров. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 221–305.

134. Позняк, Т. А. Адъюванты как эффективные средства доставки антигенов для вакцин нового поколения / Т. А. Позняк, О. Р. Князева, А. Е. Гончаров // Медицинские новости. – 2021. – № 4(319). – С. 53–58.

135. Покровский, В. И. Иммунология инфекционного процесса / В. И. Покровский, С. П. Гордиенко, В. И. Литвинова. – Москва : Медицина, 1994. – 304 с.

136. Попов, В. С. Коррекция метаболизма и микробиоценоза у супоросных свиноматок / В. С. Попов, Н. В. Воробьева // Ветеринария и кормление. – 2019. – № 4. – С. 27–29. – DOI 10.30917/АТТ-VK-1814-9588-2019-4-8.

137. Попов, В. С. Научно-практическое обоснование и аспекты применения метаболитных пробиотиков в коррекции микробиоценоза / В. С. Попов, Н. М. Наумов, Г. А. Свазлян // Вестник Ульяновской государственной сельско-

хозяйственной академии. – 2020. – № 4(52). – С. 198–205. – DOI 10.18286/1816-4501-2020-4-198-205.

138. Применение фитобиотиков в свиноводстве / А. А. Белооков, О. В. Белоокова, Е. В. Чухутин, О. В. Горелик // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2021. – № 11(196). – С. 50–56. – DOI 10.33920/sel-05-2111-06.

139. Пробиотики для коррекции энтеробиоценоза телят / А. В. Андреева, О. Н. Николаева, Д. В. Кадырова, О. М. Алтынбеков // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2014. – № 3. – С. 4.

140. Пробиотики и пребиотики в промышленном свиноводстве и птицеводстве / В. С. Буяров, И. В. Червонова, Н. И. Ярован [и др.]. – Орел : Орловский государственный аграрный университет, 2014. – 164 с.

141. Проблемы антибиотикотерапии энтеротоксигенного эшерихиоза телят и поросят и пути их решения / А. С. Тищенко, А. Г. Коцаев, П. П. Яковенко [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2022. – № 3. – С. 8–11. – DOI 10.33861/2071-8020-2022-3-8-11.

142. Продуктивность и естественная резистентность поросят-сосунов при введении в рацион препарата Био-Мос / В. А. Дойлидов, А. В. Вишневец, Д. А. Каспирович [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2008. – Т. 44, № 1. – С. 104–107.

143. Профилактика колидиареи у поросят-отъемышей / С. Н. Тельнов, А. Шипицын, А. Скориков [и др.] // Главный зоотехник. – 2008. – № 1. – С. 44–46.

144. Профилактика неонатальной диареи поросят с использованием пробиотической кормовой добавки «БОНАКА-АПК-N» / Е. Ю. Облогина, В. И. Терехов, Т. В. Марченко, С. В. Копыльцов // Ветеринария Кубани. – 2023. – № 2. – С. 15–18.

145. Прудников, С. И. Факторные инфекционные болезни свиней и их профилактика / С. И. Прудников // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2007. – № 6(174). – С. 74–80.

146. Псиола, В. Н. Профилактика эшерихиоза у новорожденных поросят с использованием препарата «Гидрогемол» : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Псиола Владимир Николаевич. – Краснодар, 2007. – 146 с.

147. Пукшлис, А. И. Эпизоотическая ситуация по эшерихиозу поросят в Республике Беларусь / А. И. Пукшлис, Ю. В. Ломако, Е. В. Гусева // Ветеринария сегодня, 2012. – №3. – С. 37–41.

148. Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шигатоксин-продуцирующими *Escherichia coli*. Ч. 2 / Э. А. Светоч, И. А. Дятлов, Ш. Н. Карцев [и др.] // Бактериология. – 2020. – Т. 5, № 3. – С. 47–59. – DOI 10.20953/2500-1027-2020-3-47-59.

149. Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шигатоксин-продуцирующими *Escherichia coli* / Э. А. Светоч, И. А. Дятлов, Н. Н. Карцев [и др.] // Ч. 1. Бактериология. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 56–70. – DOI 10.20953/2500-1027-2020-2-56-70.

150. Распространение и этиологическая структура эшерихиоза в Краснодарском крае / А. В. Скориков, В. Н. Шевкопляс, В. И. Терехов, А. Ф. Дмитриев // Вестник ветеринарии. – 2004. – № 29. – С. 14–17.

151. Распространение эшерихиоза поросят и способ его специфической профилактики / А. С. Тищенко, Е. Н. Новикова, Д. П. Винокурова [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 137. – С. 220–229. – DOI 10.21515/1990-4665-137-036.

152. Распространенность *E. coli* с антигенами адгезии F18 и K88 у поросят-отъемышей / Э. А. Светоч, В. А. Баннов, В. В. Гусев, В. Н. Борзенков // Ветеринария. – 2006. – № 5. – С. 24–27.

153. Распространенность острых кишечных инфекций телят и поросят в Краснодарском крае / А. Г. Кощачев, О. Ю. Черных, А. С. Тищенко [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 10. – С. 65–75. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202310008.

154. Роль адъювантов в противоящурной вакцине для экстренной защиты / Д. В. Михалишин, Н. Д. Клюкина, Н. Н. Ходакова, Т. Н. Лезова // Ветеринарная патология. – 2006. – № 4. – С. 46–48.

155. Сайфутдинов, Р. Ф. Повышение колострального иммунитета телят к колибактериозу с использованием Стимулина : дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Сайфутдинов Руслан Фавадисович. – 2018. – 104 с.

156. Самойленко, В. С. Совершенствование профилактики желудочно-кишечных заболеваний у молодняка крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Самойленко Виктор Сергеевич. – Ставрополь, 2022. – 23 с.

157. Светоч, Э. А. Биологическая и генетическая характеристика возбудителя колибактериоза телят / Э. А. Светоч, В. В. Гусев, Е. И. Попов // Ветеринария. – 1999. – № 5. – С. 20–23.

158. Светоч, Э. А. Факторы патогенности возбудителей эшерихиозов сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.03 / Светоч Эдуард Арсеньевич. – Москва, 1992. – 41 с.

159. Светоч, Э. А. Этиология постотъемной колидиареи свиней / Э. А. Светоч, В. В. Гусев // Ветеринария. – 2005. – № 12. – С. 23–26.

160. Севастьянова, Т. В. Структура рынка пробиотиков в России / Т. В. Севастьянова // Аграрная наука. – 2023. – № 10. – С. 50–56. – DOI 10.32634/0869-8155-2023-375-10-50-56.

161. Семенов, А. В. Характеристика отношений между пробиотическими и автохтонными микроорганизмами и алгоритм индивидуального подбора пробиотиков / А. В. Семенов // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 6. – С. 792–795.

162. Серологическая диагностика энтеропатогенных штаммов *Escherichia coli*, циркулирующих у крупного рогатого скота / Ю. В. Ломако, О. Н. Новикова, А. В. Соловьева [и др.] // БИО. – 2018. – № 12(219). – С. 10–13.

163. Сетдеков, Р. А. Разработка новых средств специфической профилактики и лечения эшерихиозов телят и поросят : дис. ... д-ра ветеринар. наук : 06.02.02 / Сетдеков Ринат Абдулхакович. – Казань, 2014. – 263 с.

164. Сибиряк, С. В. Иммуотропные свойства липополисахаридов грамотрицательных бактерий / С. В. Сибиряк, Е. К. Алехин // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – Т. 33, № 1. – С. 871–877.

165. Сидорчук, А. А. Оценка иммунологической эффективности различных адъювантов при изготовлении бактериальных вакцин / А. А. Сидорчук, С. Д. Панасюк, Ю. Н. Федоров // Тр. ВИЭВ. – 1989 – Т. 67. – С. 3–10.

166. Синбиотики для поросят. Механизм действия. Преимущества применения / В. Г. Стояновский, О. И. Камрацка, И. А. Коломиец, О. И. Мацюк // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2014. – Т. 16, № 3-2(60). – С. 314–320.

167. Сkläров, О. Д. Этиологическая структура эшерихиоза телят в Рязанской области / О. Д. Сkläров, А. В. Моторыгин // Ветеринария Кубани. – 2011. – № 6. – С. 5–7.

168. Скорилов, А. В. Новые подходы к профилактике эшерихиоза поросят / А. В. Скорилов, В. И. Терехов, В. Н. Псиола // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных : материалы Международной научно-практической конференции. – Москва : Изографъ, 2006. – С. 365–369.

169. Скорилов, А. В. Эпизоотическая ситуация по колибактериозу поросят в Краснодарском крае / А. В. Скорилов, А. Ф. Дмитриев, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 4. – С. 3–6.

170. Скорилов, А. В. Эффективность использования пребиотического средства в профилактике острых кишечных заболеваний у телят и поросят / А. В. Скорилов, В. Н. Псиола, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 2. – С. 8–11.

171. Соколова, Н. А. Адгезивные антигены и энтеротоксины эшерихий, патогенные для молодняка сельскохозяйственных животных / Н. А. Соколова, Н. И. Евглевская, Т. К. Курашвили [и др.] // Ветеринария. – 1989. – № 5. – С. 33–35.

172. Спиридонов, А. Г. Этиология инфекционных диарей новорожденных поросят и телят / А. Г. Спиридонов, А. Ф. Махмутов // Ветеринарная медицина. – 2011. – Вып. 95. – С. 264–265.

173. Сравнительный анализ состава микроорганизмов, изолированных от новорожденных телят и поросят при острых кишечных заболеваниях / В. И. Терехов, А. С. Тищенко, Т. В. Малышева, Я. Н. Мартыненко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 132. – С. 728–741. – DOI 10.21515/1990-4665-132-058.

174. Степанова, М. В. Изучение продукции термостабильного энтеротоксина штаммами кишечной палочки / М. В. Степанова, Ю. В. Езепчук // Бактериальные токсины : сборник научных трудов / НИИЭиМ имени Н. Ф. Гамалеи. – Москва, 1987. – С. 157–162.

175. Субботин, В. В. Получение здорового молодняка и профилактика желудочно-кишечных болезней новорожденных телят / В. В. Субботин // Ветинформ. – 2002. – № 2. – С. 12–13.

176. Татарников, К. В. Совершенствование средств и способов профилактики и лечения колибактериоза свиней : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Татарников Кирилл Викторович. – Курск, 2014. – 22 с.

177. Тельнов, С. Н. Состояние кишечного микробиоценоза и резистентности организма поросят-отъёмышей при колиэнтеротоксемии и методы их коррекции : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Тельнов Сергей Николаевич. – Краснодар, 2002. – 18 с.

178. Терехов, В. И. Влияние адъювантов на иммуногенные свойства эшерихиозного анатоксина при вакцинации стельных коров / В. И. Терехов, А. С. Тищенко // Ветеринария Кубани. – 2011. – № 3. – С. 19–21.

179. Терехов, В. И. Влияние среды и продолжительности культивирования на токсинообразование у *Escherichia coli* / В. И. Терехов, Н. В. Колесникова, Я. М. Караев // Профилактика и лечение болезней животных : сборник научных трудов / КубГАУ. – Краснодар, 2007. – С. 80–83.

180. Терехов, В. И. Влияние эшерихиозного анатоксина на нейтрофильные гранулоциты / В. И. Терехов, Я. М. Караев, М. В. Уманская // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : материалы 1 Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. – Краснодар, 2007. – С. 256–257.

181. Терехов, В. И. Возбудитель эшерихиоза телят и поросят : монография / В. И. Терехов, А. С. Тищенко. – Краснодар : КубГАУ, 2022. – 168 с.
182. Терехов, В. И. Ранняя профилактика желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят : методические рекомендации / В. И. Терехов, В. Н. Боровой, О. Б. Терехова. – Краснодар : КубГАУ, 2005. – 21 с.
183. Терехов, В. И. Факторы адгезии и колициногенная активность *Escherichia coli* / В. И. Терехов, А. С. Тищенко, И. В. Сердюченко // Вестник ветеринарии. – 2015. – № 3(74). – С. 41–45.
184. Терехов, В. И. Эпизоотическая ситуация по колибактериозу телят в Краснодарском крае / В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2016. – № 3. – С. 15–18.
185. Терехов, В. И. Этиопатогенетическая фармакотерапия смешанной кишечной инфекции у новорожденных телят : дис. ... д-ра биол. наук : 16.00.04 ; 16.00.03 / Терехов Владимир Иванович. – Краснодар, 2000. – 304 с.
186. Терехов, В. И. Эшерихиоз поросят и его профилактика / В. И. Терехов, Н. В. Колесникова, Я. М. Караев // Ветеринария Кубани. – 2006. – № 2. – С. 28–30.
187. Терехов, В. И. Эшерихиоз поросят и его профилактика / В. И. Терехов, Н. В. Колесникова, Я. М. Караев // Ветеринария Кубани. – 2006. – № 1. – С. 12–13.
188. Терехов, В. Этиология и эпизоотология желудочно-кишечных болезней новорожденных телят / В. Терехов // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2012. – № 1. – С. 15.
189. Тимофеев, Н. П. Фитобиотики в мировой практике: виды растений и действующие вещества, эффективность и ограничения, перспективы (обзор) / Н. П. Тимофеев // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2021. – Т. 22, № 6. – С. 804–825. – DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.6.804-825.
190. Титов, В. Профилактика послеотъемной диареи у поросят / В. Титов, Г. Парфенов // Животноводство России. – 2020. – № 9. – С. 33–36.

191. Тищенко, А. С. Ветеринарные решения для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных / А. С. Тищенко, А. П. Седашев, К. К. Дубенцов // Современные проблемы в животноводстве: состояние, решения, перспективы : сборник статей по материалам II Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию академика В. Г. Рядчикова, Краснодар, 25–26 января 2024 г. – Краснодар : КубГАУ, 2024. – С. 512–517.

192. Тищенко, А. С. Видовой состав микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных от телят при острых кишечных болезнях / А. С. Тищенко // Итоги научно-исследовательской работы за 2017 год : сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции преподавателей, Краснодар, 14 марта 2018 г. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – С. 181–182.

193. Тищенко, А. С. Влияние адъювантных композиций на иммуногенность обезвреженных экзотоксинов *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, И. В. Сердюченко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2024. – № 2 (66). – С. 156–162. – DOI 10.18286/1816-4501-2024-2-156-162.

194. Тищенко, А. С. Влияние адъювантов на иммуногенные свойства эшерихиозного анатоксина : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Тищенко Александр Сергеевич. – Краснодар, 2011. – 25 с.

195. Тищенко, А. С. Влияние адъювантов на иммуногенные свойства эшерихиозного анатоксина : дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Тищенко Александр Сергеевич. – Краснодар, 2011. – 136 с.

196. Тищенко, А. С. Влияние инаktivированных токсинов кишечной палочки на микробицидные свойства нейтрофильных гранулоцитов / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, А. В. Степаненко // Научная жизнь. – 2019. – Т. 14, № 11(99). – С. 1757–1764. – DOI 10.35679/1991-9476-2019-14-11-1757-1764.

197. Тищенко, А. С. Влияние инаktivированных токсинов кишечной палочки на показатели крови у животных / А. С. Тищенко, Е. Н. Новикова, А. В. Степаненко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2019. – № 79. – С. 214–220. – DOI 10.21515/1999-1703-79-214-220.

198. Тищенко, А. С. Влияние инактивированных токсинов кишечной палочки на антителообразование / А. С. Тищенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 49–51. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2020.1.49.

199. Тищенко, А. С. Влияние различных адъювантов на свойства эшерихиозного анатоксина, изменяющие функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов / А. С. Тищенко, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2010. – № 6. – С. 11–13.

200. Тищенко, А. С. Гистопатологические изменения при экспериментальной эшерихиозной инфекции, вызванной экзотоксинами *Escherichia coli* / А. С. Тищенко // Вестник КрасГАУ. – 2024. – № 4. – С. 128–135. – DOI 10.36718/1819-4036-2024-4-128-135.

201. Тищенко, А. С. Динамика продукции антител при энтеротоксигенном эшерихиозе / А. С. Тищенко // Год науки и технологий 2021 : сборник тезисов по материалам Всероссийской научно-практической конференции, Краснодар, 9–12 февраля 2021 г. / отв. за вып. А. Г. Коцаев. – Краснодар : КубГАУ, 2021. – С. 76.

202. Тищенко, А. С. Изменение гематологических показателей у животных после введения им инактивированных токсинов *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 4. – С. 6–9.

203. Тищенко, А. С. Изменение фагоцитарных свойств нейтрофилов под влиянием инактивированных экзотоксинов *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, В. И. Терехов // Актуальные вопросы управления производством растениеводческой и животноводческой продукции АПК и здоровьем сельскохозяйственных животных : материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, пос. Персиановский, 20 декабря 2019 г. – пос. Персиановский : ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет», 2019. – С. 405–409.

204. Тищенко, А. С. Иммуногенность эшерихиозного анатоксина при использовании с пирогеналом и полиакриловой кислотой / А. С. Тищенко,

В. И. Терехов, И. В. Сердюченко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам X Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 120-летию И. С. Косенко, Краснодар, 26–30 ноября 2016 г. / отв. за вып. А. Г. Кощев. – Краснодар : КубГАУ, 2017. – С. 287–288.

205. Тищенко, А. С. Иммуногенные свойства эшерихиозного полианатоксина в сочетании с гидратом окиси алюминия / А. С. Тищенко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник статей по материалам 72-й научно-практической конференции преподавателей по итогам НИР за 2016 год, Краснодар, 29 марта 2017 г. – Краснодар : КубГАУ, 2017. – С. 199–200.

206. Тищенко, А. С. Исследование микробицидных свойств нейтрофильных гранулоцитов под влиянием инактивированных токсинов кишечной палочки / А. С. Тищенко, А. В. Степаненко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов национальной научно-практической конференции, посвященной памяти д-ра биол. наук, проф. Е. П. Ващекина, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почетного работника высшего профессионального образования РФ, Почетного гражданина Брянской области, Брянск, 22–23 января 2020 г. Ч. 1. – Брянск : Брянский государственный аграрный университет, 2020. – С. 178–182.

207. Тищенко, А. С. Особенности взаимодействия клеток крови и инактивированных токсинов кишечной палочки / А. С. Тищенко, Я. Н. Мартыненко, А. В. Степаненко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 82. – С. 159–165. – DOI 10.21515/1999-1703-82-159-165.

208. Тищенко, А. С. Оценка гуморального иммунного ответа у супоросных свиноматок, иммунизированных эшерихиозным анатоксином в сочетании с адъювантами / А. С. Тищенко, В. И. Терехов // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2011. – № 29. – С. 144–147.

209. Тищенко, А. С. Оценка иммуногенных качеств вакцины против острых кишечных болезней поросят / А. С. Тищенко // Научная жизнь. – 2019. – Т. 14, № 5(93). – С. 684–692. – DOI 10.26088/INOV.2019.93.31124.

210. Тищенко, А. С. Повышение иммуногенности анатоксин-вакцины против эшерихиоза / А. С. Тищенко, П. П. Яковенко, Д. О. Алферов // Точки научного роста: на старте десятилетия науки и технологии : материалы ежегодной научно-практической конференции преподавателей по итогам НИР за 2022 год, Краснодар, 12 мая 2023 г. – Краснодар : КубГАУ, 2023. – С. 242–244.

211. Тищенко, А. С. Применение минерально-масляного адъюванта для повышения иммуногенности колианатоксина / А. С. Тищенко // Современные векторы развития науки : сборник статей по материалам ежегодной научно-практической конференции преподавателей по итогам НИР за 2023 год, Краснодар, 6 февраля 2024 г. – Краснодар : КубГАУ, 2024. – С. 182–184.

212. Тищенко, А. С. Проблема острых кишечных болезней у поросят и пути ее решения / А. С. Тищенко, Я. Н. Мартыненко // Современные проблемы в животноводстве: состояние, решения, перспективы : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию академика РАН В. Г. Рядчикова, Краснодар, 17–18 октября 2019 г. – Краснодар : ФГБУ «Российское энергетическое агентство» Минэнерго России Краснодарский ЦНТИ – филиал ФГБУ «РЭА» Минэнерго России, 2019. – С. 262–267.

213. Тищенко, А. С. Профилактика эшерихиоза у телят и поросят : монография / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, А. Г. Коцаев. – Краснодар : КубГАУ, 2024. – 226 с.

214. Тищенко, А. С. Профилактическая эффективность ассоциированной вакцины при острых кишечных инфекциях у поросят / А. С. Тищенко, Я. Н. Мартыненко // Научное обеспечение агропромышленного комплекса : сборник тезисов по материалам Всероссийской (национальной) конференции, Краснодар, 19 декабря 2019 г. / отв. за вып. А. Г. Коцаев. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – С. 121–122.

215. Тищенко, А. С. Профилактическая эффективность экспериментальной вакцины против токсигенной эшерихиозной инфекции / А. С. Тищенко, А. Г. Коцаев, Т. В. Малышева // Научное обеспечение животноводства Сибири : материалы VII Международной научно-практической конференции, Крас-

ноярск, 18–19 мая 2023 г. – Красноярск : ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», 2023. – С. 291–293.

216. Тищенко, А. С. Распространение возбудителя эшерихиоза среди телят и поросят в Краснодарском крае / А. С. Тищенко // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2024. – Т. 257, № 1. – С. 244–250. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_1_257_244.

217. Тищенко, А. С. Специфическая профилактика коли-инфекции у кроликов с помощью эшерихиозного полианатоксина в сочетании с адъювантами / А. С. Тищенко // Итоги научно-исследовательской работы за 2017 год : сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции преподавателей, Краснодар, 14 марта 2018 г. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – С. 183–184.

218. Тищенко, А. С. Специфическая профилактика острых кишечных заболеваний у телят / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, Я. Н. Мартыненко // Ветеринарная патология. – 2019. – № 4(70). – С. 55–61.

219. Тищенко, А. С. Специфическая профилактика эшерихиоза, вызванного энтеротоксигенными вариантами *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, Е. И. Семенова // Эффективное животноводство. – 2022. – № 2(177). – С. 62–63. – DOI 10.24412/cl-33489-2022-2-62-63.

220. Тищенко, А. С. Сравнительная характеристика препаратов при профилактике острых кишечных заболеваний у телят / А. С. Тищенко, Я. Н. Мартыненко // Актуальные вопросы управления производством растениеводческой и животноводческой продукции АПК и здоровьем сельскохозяйственных животных : материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, пос. Персиановский, 20 декабря 2019 г. – пос. Персиановский : ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет», 2019. – С. 401–405.

221. Тищенко, А. С. Экзотоксины патогенных *Escherichia coli* / А. С. Тищенко, А. В. Степаненко, В. И. Терехов // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 5. – С. 3–7. – DOI 10.33861/2071-8020-2020-5-3-7.

222. Тищенко, А. С. Энтеротоксигенный эшерихиоз и его специфическая профилактика / А. С. Тищенко // Итоги научно-исследовательской работы за 2021 год : материалы Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Кубанского ГАУ, Краснодар, 6 апреля 2022 г. / отв. за вып. А. Г. Кощачев. – Краснодар : КубГАУ, 2022. – С. 207–208.

223. Трухачев, В. И. Использование фитобиотиков в кормлении моногастрических животных (обзор) / В. И. Трухачев, М. И. Селионова, А. Ю. Загарин // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2023. – № 4. – С. 126–143. – DOI 10.26897/0021-342X-2023-4-126-143.

224. Трушкин В.А. Использование пробиотика «Авена» для профилактики энтерита у новорожденных телят // Иппология и ветеринария. – 2014. – № 2(12). – С. 74–76.

225. Утц, С. А. Колостральный иммунитет у новорожденных телят в норме и при диспепсии : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.01 / Утц Светлана Алексеевна. – Барнаул, 2020. – 23 с.

226. Федоров, Ю. Е. Эффективность имактина при диареях новорожденных телят : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Федоров Юрий Евгеньевич. – Краснодар, 2014. – 22 с.

227. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных / О. А. Багно, О. Н. Прохоров, С. А. Шевченко [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 4. – С. 687–697. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.4.687rus.

228. Фитобиотики как альтернатива антибиотикам в животноводстве / В. А. Рязанов, М. Я. Курилкина, Г. К. Дускаев, В. М. Габидулин // Животноводство и кормопроизводство. – 2021. – Т. 104, № 4. – С. 108–123. – DOI 10.33284/2658-3135-104-4-108.

229. Хазиахметов, Ф. С. Использование пробиотика «Стимикс Зоостим» при выращивании телят / Ф. С. Хазиахметов, А. Ф. Хабиров // Аграрный научный журнал. – 2019. – № 3. – С. 55–58. – DOI 10.28983/asj.y2019i3pp55-58.

230. Хусаинов, И. А. Функциональные олигосахара в кормлении сельскохозяйственных животных / И. А. Хусаинов, А. В. Канарский, З. А. Канарская // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15, № 12. – С. 128–136.

231. Чалченко, А. Б. Профилактика неонатальной диареи телят / А. Б. Чалченко // Животноводство России. – 2018. – № 6. – С. 31–32.

232. Чулков, Н. В. Совершенствование специфической профилактики колибактериоза телят с использованием бивалентных вакцин и гипериммунной сыворотки, изготовленных на основе аттенуированных адгезивных штаммов *E. coli* : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Чулков Николай Владимирович. – Новосибирск, 2004. – 139 с.

233. Шаймухаметов, М. А. Мониторинг эпизоотической ситуации по эшерихиозу в республике Башкортостан / М. А. Шаймухаметов, А. И. Иванов, Р. Г. Фазлаев // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2019. – № 1(49). – С. 117–121.

234. Шаймухаметов, М. А. Сравнительные терапевтические мероприятия при эшерихиозе молодняка крупного рогатого скота / М. А. Шаймухаметов, А. И. Иванов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 6(74). – С. 140–142.

235. Шахов, А. Г. Этиология и профилактика желудочно-кишечных и респираторных болезней телят и поросят / А. Г. Шахов // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях. – Воронеж, 2002. – С. 3–8.

236. Шевченко, А. А. Эпизоотическая ситуация по эшерихиозу в Ростовской области / А. А. Шевченко, А. В. Торопыно // Ветеринарная патология. – 2017. – № 3(61). – С. 3–8.

237. Шемельков, Е. В. Влияние различных типов адъювантов на эффективность вакцин против инфекционных болезней свиней : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 06.02.02 / Шемельков Евгений Владимирович. – Москва, 2010. – 25 с.

238. Шинкаревич, Н. А. Влияние применения кормовой биологически активной добавки «Ветлактофлор» супоросным свиньям на показатели опоросов и качество получаемого молодняка / Н. А. Шинкаревич, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 140–142. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.4.140.

239. Шиффман, Ф. Дж. Патологическая физиология крови / Ф. Дж. Шиффман ; пер. с англ. – Москва : Изд-во БИНОМ ; Санкт-Петербург : «Невский диалект», 2000. – С. 123–149.

240. Шульга, Н. Н. Разработка и изучение эффективности препаратов из крови животных для повышения резистентности новорожденных телят и поросят : автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук : 16.00.03 / Шульга Николай Николаевич. – Екатеринбург, 2009. – 39 с.

241. Экспериментальная оценка иммуногенных свойств ассоциированной вакцины против острых кишечных заболеваний (ОКЗ) / Д. А. Девришов, Е. С. Воронин, Е. В. Пименов [и др.] // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных. – Покров, 1998. – С. 393–395.

242. Экспериментальное испытание ассоциированной инактивированной вакцины ОКЗ / Д. А. Девришов, Е. С. Воронин, З. М. Бедоева, В. В. Шведов // Ветеринария. – 1998. – № 12. – С. 12–14.

243. Энтеросорбенты и пребиотики в профилактике и лечении патологии желудочно-кишечного тракта у животных / В. В. Великанов, А. А. Белко, А. С. Игнатенко [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2015. – Т. 51, № 2. – С. 19–22.

244. Эффективность применения комбинированных вакцин серии Комбовак / А. Е. Хитрова, В. А. Сергеева, Т. И. Алипер, О. А. Верховский // Ветеринария. – 2006. – № 9. – С. 17–20.

245. Эшерихиоз сельскохозяйственных животных на территории Иркутской области / А. С. Батомункуев, А. М. Аблов, И. Г. Трофимов [и др.] // Вест-

ник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В. Р. Филиппова. – 2018. – № 3(52). – С. 47–53.

246. A novel mechanism of bacterial toxin transfer within host blood cell-derived microvesicles / A. L. Ståhl, I. Arvidsson, K. E. Johansson [et al.] // PLoS Pathog. – 2015. – № 11(2). – P. e1004619. – DOI 10.1371/journal.ppat.1004619.

247. Adherent invasive *Escherichia coli* (AIEC) strain LF82, but not *Candida albicans*, plays a profibrogenic role in the intestine / D. Chokr, M. Cornu, C. Neut [et al.] // Gut Pathog. – 2021, Jan 28. – № 13(1). – P. 5. – DOI 10.1186/s13099-021-00401-z.

248. Adhesin Degradation Accelerates Delivery of Heat-labile Toxin by Enterotoxigenic *Escherichia coli* / K. Roy, R. Kansal, S. R. Bartels [et al.] // The Journal of biological chemistry. – 2011. – № 286(34). – P. 29771–29779. – DOI 10.1074/jbc.M111.251546.

249. Adhesion of Human and Animal *Escherichia coli* Strains in Association with Their Virulence-Associated Genes and Phylogenetic Origins / U. Frömmel, W. Lehmann, S. Rödiger [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. – 2013. – № 79(19). – P. 5814–5829. – DOI 10.1128/AEM.01384-13.

250. Adjuvants, cytokines and vaccine development / F. Belardelli, E. Proietti, M. Ferrantini, I. Capone // Congr. ISTISAN. – 2004. – № 1. – P. 21.

251. Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli* / P. M. Fratamico, C. DebRoy, Y. Liu [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2016. – № 7. – P. 644. – DOI 10.3389/fmicb.2016.00644.

252. AIEC infection triggers modification of gut microbiota composition in genetically predisposed mice, contributing to intestinal inflammation / A. Bretin, C. Lucas, A. Larabi [et al.] // Sci. Rep. – 2018, Aug 17. – № 8(1). – P. 12301. – DOI 10.1038/s41598-018-30055-y.

253. Alsaiady, M. Effect of Probiotic Bacteria on Immunoglobulin G Concentration and Other Blood Components of Newborn Calves / M. Alsaiady // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2010. – № 9. – P. 604–609. – DOI 10.3923/javaa.2010.604.609.

254. Amin, N. Dynamic progression of the calf's microbiome and its influence on host health / N. Amin, J. Seifert // *Comput Struct Biotechnol J.* – 2021, Jan 26. – № 19. – P. 989–1001. – DOI 10.1016/j.csbj.2021.01.035.

255. An insight into the commercial piglet's microbial gut colonization: from birth towards weaning / M. Saladrigas-García, M. Durán, M. D'Angelo, J. Coma [et al.] // *Anim Microbiome.* – 2022, Dec 26. – № 4(1). – P. 68. – DOI 10.1186/s42523-022-00221-9.

256. Analysis of fimbrial gene clusters and their expression in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 / A. S. Low, N. Holden, T. Rosser [et al.] // *Environ Microbiol.* – 2006. – № 8(6). – P. 1033–1047. – DOI 10.1111/j.1462-2920.2006.00995.x.

257. Analysis of the AIDA-I gene sequence and prevalence in *Escherichia coli* isolates from pigs with post-weaning diarrhoea and oedema disease / L. Zhao, X. Chen, X. Xu [et al.] // *Vet. J.* – 2009. – № 180(1). – P. 124–129. – DOI 10.1016/j.tvjl.2007.10.021.

258. Analysis of the Virulence Profile and Phenotypic Features of Typical and Atypical Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) Isolated From Diarrheal Patients in Brazil / R. C. B. Dias, R. H. S. Tanabe, M. A. Vieira [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020, Apr. 22. – № 10. – P. 144. – DOI 10.3389/fcimb.2020.00144.

259. Antibodies to intimin and *Escherichia coli*-secreted proteins EspA and EspB in sera of Brazilian children with hemolytic uremic syndrome and healthy controls / M. Guirro, R. L. de Souza, R. M. Piazza, B. E. Guth // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2013. – № 152(1–2). – P. 121–215. – DOI 10.1016/j.vetimm.2012.09.016.

260. Antimicrobial Effects on Swine Gastrointestinal Microbiota and Their Accompanying Antibiotic Resistome / M. D. Barton, M. Zeineldin, B. Aldridge, J. Lowe // *Front. Microbiol.* – 2019. – № 10. – P. 1035. – DOI 10.3389/fmicb.2019.01035.

261. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* / L. Poirel, J.-Y. Madec, A. Lupo [et al.] // Microbiol. Spectrum. – 2018. – № 6(4): ARBA-0026-2017. – DOI 10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017.
262. Bacteriocin Occurrence and Activity in *Escherichia coli* Isolated from Bovines and Wastewater / A. Cameron, R. Zaheer, E. H. Adator [et al.] // Toxins. – 2019. – № 11. – P. 475. – DOI 10.3390/toxins11080475.
263. Bacteriophage and probiotics both enhance the performance of growing pigs but bacteriophage are more effective // K. H. Kim, S. L. Ingale, J. S. Kim [et al.]. – Anim. Feed Sci. Technol. – 2014. – № 196. – P. 88–95. – DOI 10.1016/j.anifeedsci.2014.06.012.
264. Bardiau, M. Initial adherence of EPEC, EHEC and VTEC to host cells / M. Bardiau, M. Szalo, J. G. Mainil // Vet. Res. – 2010. – № 41(5). – P. 57. – DOI 10.1051/vetres/2010029.
265. Barnhart, M. M. Curli biogenesis and function / M. M. Barnhart, M. R. Chapman // Annu. Rev. Microbiol. – 2006. – № 60. – P. 131–147. – DOI 10.1146/annurev.micro.60.080805.142106.
266. Bashahun, G. Colibacillosis in calves : A review of literature / G. Bashahun, A. Amina // J. Anim. Sci. Vet. Med. – 2017. – № 2. – P. 62–71. – DOI 10.31248/JASVM2017.041.
267. Bertani, B. Function and biogenesis of lipopolysaccharides / B. Bertani, N. Ruiz // EcoSal Plus. – 2018. – № 8(1). – DOI 10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018.
268. Bessler Wolfgang, G. Lipopeptide adjuvants / G. Wolfgang Bessler // Arzneim.-Forsch. – 2007. – № 1. – P. 60.
269. Both enzymatic and non-enzymatic properties of heat-labile enterotoxin are responsible for LT-enhanced adherence of enterotoxigenic *Escherichia coli* to porcine IPEC-J2 cells / P. Z. Fekete, K. S. Mateo, W. Zhang [et al.] // Vet. Microbiol. – 2013. – № 164. – P. 330–335. – DOI 10.1016/j.vetmic.2013.02.019.
270. Bovine immune response to Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 / M. A. Hoffman, C. Menge, T. A. Casey [et al.] // Clin. and Vaccine Immunol. – 2006. – № 12. – P. 1322–1327.

271. Brenner, D. J. Enterobacteriaceae. The gammaproteobacteria // D. J. Brenner, J. J. Farmer / In Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Vol. 2. Part B. – New York : Springer, 2005. – P. 587–606. – URL : <http://wsmicrobiology.com/bergeys-manual-of-systematic-bacteriology-volume-1-to-5/>.

272. Brewer, M. J. How do aluminium adjuvants work? / M. J. Brewer // Immunol. Lett. – 2006. – № 1. – P. 10–15.

273. Butt, S. Impact of the *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin b (STb) on Gut Health and Function / S. Butt, M. Saleh, J. Gagnon // Toxins. – 2020. – № 12(12). – P. 760. – DOI 10.3390/toxins12120760.

274. Capsulized faecal microbiota transplantation ameliorates post-weaning diarrhoea by modulating the gut microbiota in piglets / W. Tang, D. Chen, B. Yu [et al.] // Vet. Res. – 2020. – P. 51–55. – DOI 10.1186/s13567-020-00779-9.

275. Chae, B. S. Pretreatment of Low-Dose and Super-Low-Dose LPS on the Production of In Vitro LPS-Induced Inflammatory Mediators / B. S. Chae // Toxicol. Res. – 2018. – № 34(1). – P. 65–73. – DOI 10.5487/TR.2018.34.1.065.

276. Characterization of fecal branched-chain fatty acid profiles and their associations with fecal microbiota in diarrheic and healthy dairy calves / H. Xin, T. Ma, Y. Xu [et al.] // J Dairy Sci. – 2021, Feb. – № 104(2). – P. 2290–2301. – DOI 10.3168/jds.2020-18825.

277. Cho, Y. I. An overview of calf diarrhea – infectious etiology, diagnosis, and intervention / Y. I. Cho, K. J. Yoon // J. Vet. Sci. – 2014. – № 15(1). – P. 1–17. – DOI 10.4142/jvs.2014.15.1.1.

278. Cloning, expression, purification, crystallization and X-ray crystallographic analysis of CofB, the minor pilin subunit of CFA/III from human enterotoxigenic *Escherichia coli* / K. Kawahara, H. Oki, S. Fukakusa [et al.] // Acta Cryst. – 2015. – № 71(Pt 6). – P. 663–667. – DOI 10.1107/S2053230X15005890.

279. Colibactin: More Than a New Bacterial Toxin / T. Faïs, J. Delmas, N. Barnich [et al.] // Toxins. – 2018. – № 10(4). – P. 151. – DOI 10.3390/toxins10040151.

280. Colicin Biology / E. Cascales, S. K. Buchanan, D. Duche [et al.] // Microbiology and molecular Biology reviews. – 2007. – № 71(1). – P. 158–229. – DOI 10.1128/MMBR.00036-06.

281. Construction and immunogenicity evaluation of an epitopebased antigen against swine influenza A virus using *Escherichia coli* heatlabile toxin B subunit as a carrier-adjuvant / Z. Sun, S. Lawson, R. Langenhorst [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2013. – № 164. – P. 229–238. – DOI 10.1016/j.vetmic.2013.02.010.

282. Consumption of Dietary Fiber from Different Sources during Pregnancy Alters Sow Gut Microbiota and Improves Performance and Reduces Inflammation in Sows and Piglets / B. Liu, X. Zhu, Y. Cui [et al.] // *mSystems.* – 2021, Jan 26. – № 6(1). – P. e00591-20. – DOI 10.1128/mSystems.00591-20.

283. Cutting-edge knowledge on the roles of phytobiotics and their proposed modes of action in swine / S. Pandey, E. S. Kim, J. H. Cho [et al.] // *Front Vet. Sci.* – 2023, Sep. 20. – № 10. – P. 1265689. – DOI 10.3389/fvets.2023.1265689.

284. Cytotoxic *Escherichia coli* strains encoding colibactin, cytotoxic necrotizing factor, and cytolethal distending toxin colonize laboratory common marmosets (*Callithrix jacchus*) / C. S. McCoy, A. J. Mannion, Y. Feng [et al.] // *Scientific Reports.* – 2021. – № 11(1). – P. 2309. – DOI 10.1038/s41598-020-80000-1.

285. Dautin, N. Serine Protease Autotransporters of Enterobacteriaceae (SPATEs): Biogenesis and Function / N. Dautin // *Toxins.* – 2010. – № 2. – P. 1179–1206. – DOI 10.3390/toxins2061179.

286. Decreased STEC shedding by cattle following passive and active vaccination based on recombinant *Escherichia coli* Shiga toxoids / N. Schmidt, S. A. Barth, J. Frahm [et al.] // *Vet. Res.* – 2018. – № 49(1). – P. 28. – DOI 10.1186/s13567-018-0523-0.

287. Development of a new candidate vaccine against piglet diarrhea caused by *Escherichia coli* / C. Xu, F. Fu, Y. She [et al.] // *Open Life Sci.* – 2023, Dec 31. – № 18(1). – P. 2022–0804. – DOI 10.1515/biol-2022-0804.

288. Development of an enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine based on the heat-stable toxin / E. D. Zegeye, M. L. Govasli, H. Sommerfelt, P. Puntervoll // *Human vaccines & immunotherapeutics.* – 2019. – № 15(6). – P. 1379–1388. – DOI 10.1080/ 21645515.2018.1496768.

289. Development of Next-Generation Probiotics by Investigating the Interrelationships between Gastrointestinal Microbiota and Diarrhea in Preruminant Holstein

Calves / S. T. Chuang, C. T. Chen, J. C. Hsieh [et al.] // *Animals (Basel)*. – 2022, Mar 10. – № 12(6). – P. 695. – DOI 10.3390/ani12060695.

290. Diarrheagenic *Escherichia coli* / T. A. T. Gomes, W. P. Elias, I. C. A. Scaletsky [et al.] // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2016. – № 47. – P. 3–30. – DOI 10.1016/J.BJM.2016.10.015.

291. Distribution, functional expression, and genetic organization of Cif, a phage-encoded type III-secreted effector from enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* / E. Loukiadis, R. Nobe, S. Herold [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2008. – № 190(1). – P. 275–285. – DOI 10.1128/JB.00844-07.

292. Do, K. H. Virulence genes and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic weaned piglets in Korea / K. H. Do, J. W. Byun, W. K. Lee // *J. Anim. Sci. Technol.* – 2020. – № 62(4). – P. 543–552. – DOI 10.5187/jast.2020.62.4.543; Lee S.I.2009.

293. Dougherty M. W. Shining a Light on Colibactin Biology / M. W. Dougherty, C. Jobin // *Toxins*. – 2021. – № 13(5). – P. 346. – DOI 10.3390/toxins13050346.

294. Dubreuil, J. D. Animal enterotoxigenic *Escherichia coli* / J. D. Dubreuil, R. E. Isaacson, D. M. Schifferli // *EcoSal Plus*. – 2016. – № 7(1). – DOI 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2016.

295. Dubreuil, J. D. Antibacterial and antidiarrheal activities of plant products against enterotoxinogenic *Escherichia coli* / J. D. Dubreuil // *Toxins (Basel)*. – 2013, Nov. 7. – № 5(11). – P. 2009–2041. – DOI 10.3390/toxins5112009.

296. Dubreuil, J. D. EAST1 toxin: An enigmatic molecule associated with sporadic episodes of diarrhea in humans and animals / J. D. Dubreuil // *J. Microbiol.* – 2019. – № 57(7). – P. 541–549. – DOI 10.1007/s12275-019-8651-4.

297. Dubreuil, J. D. *Escherichia coli* STb toxin and colibacillosis: Knowing is half the battle / J. D. Dubreuil // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2008. – № 278(2). – P. 137–145. – DOI 10.1111/j.1574-6968.2007.00967.x.

298. Dubreuil, J. D. Pig vaccination strategies based on enterotoxigenic *Escherichia coli* toxins / J. D. Dubreuil // *Braz J Microbiol.* – 2021, Dec. – № 52(4). – P. 2499–2509. – DOI 10.1007/s42770-021-00567-3.

299. Dynamic change of the gastrointestinal bacterial ecology in cows from birth to adulthood / C. Y. Guo, S. K. Ji, H. Yan [et al.] // *Microbiologyopen*. – 2020, Nov. – № 9(11). – e1119. – DOI 10.1002/mbo3.1119.

300. Effect of bacteriophage in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infected pigs / S. B. Cha, A. N. Yoo, W. J. Lee [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2012, Aug. – № 74(8). – P. 1037–1039. – DOI 10.1292/jvms.11-0556.

301. Effect of immunized egg proteins on the performance and neonatal diarrhoea incidence in newborn calves // S. van Kuijk, R. Kinkead, G. Scoley [et al.] // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. – 2021, May. – № 105(3). – P. 462–469. – DOI 10.1111/jpn.13484.

302. Effect of Inactivated *Escherichia coli* Exotoxins on the Phagocytic Properties of Neutrophils / A. Tishchenko, E. Novikova, V. Terekhov, I. Koba // *Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East : Agricultural Innovation Systems*, Vol. 2, Ussuriysk, 21–22 июля 2021 г. – Vol. 354. – Ussuriysk, 2022. – P. 18–25. – DOI 10.1007/978-3-030-91405-9_3.

303. Effects of dietary supplementation of bacteriophage with or without zinc oxide on the performance and gut development of weanling pigs / S. Lee, A. Hosseindoust, A. Goel [et al.] // *Ital. J. Anim. Sci.* – 2016. – № 15. – P. 412–418. – DOI 10.1080/1828051X.2016.1188676.

304. Effects of early intervention with maternal fecal microbiota and antibiotics on the gut microbiota and metabolite profiles of piglets / C. Lin, J. Wan, Y. Su, W. Zhu // *Metabolites*. – 2018. – № 8. – P. 89. – DOI 10.3390/metabo8040089.

305. Effects of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets / W. W. Wang, J. Chen, H. Zhou [et al.] // *Food Agric. Immunol.* – 2018. – № 29. – P. 84–94. – DOI 10.1080/09540105.2017.1360254.

306. Effects of the *Escherichia coli* Bacterial Toxin Cytotoxic Necrotizing Factor 1 on Different Human and Animal Cells: A Systematic Review / F. Carlini, Z. Maroccia, C. Fiorentini [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – № 22(22). – P. 12610. – DOI 10.3390/ijms222212610.

307. Efficacy of dietary supplementation of bacteriophages in treatment of concurrent infections with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 and K99 in postweaning pigs / S. J. Han, Y. Oh, C. Y. Lee, J. H. Han // J. Swine Health Prod. – 2016. – № 24. – P. 259–263.

308. Entero-haemorrhagic *Escherichia coli* haemolysin is cleaved and inactivated by serine protease EspPα / J. Brockmeyer, T. Aldick, J. Soltwisch [et al.] // Environ Microbiol. – 2011. – № 13(5). – P. 1327–1341. – DOI 10.1111/j.1462-2920.2011.02431.x.

309. Enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-stable toxin increases the rate of zinc release from metallothionein and is a zinc- and iron-binding peptide / M. C. Kiefer, N. I. Motyka, J. D. Clements, J. P. Bitoun // mSphere. – 2020. – № 5(2). – P. e00146-20. – DOI 10.1128/mSphere.00146-20.

310. Epidemiological study of diarrheagenic *Escherichia coli* virulence genes in newborn calves / E. A. Hashish, H. M. El Damaty, Y. H. Tartor, A. M. Abdelaal // Pakistan Veterinary Journal. – 2016. – № 36(1). – P. 54–58. – URL : https://www.researchgate.net/publication/282915011_Epidemiological_Study_of_Diarrheagenic_Escherichia_coli_Virulence_Genes_in_Newborn_Calves_15-311.

311. Erume, J. Comparison of the effects of different nutrient media on production of heat-stable enterotoxin-b by *Escherichia coli* / J. Erume, E. M. Berberov, R. A. Moxley // Vet. Microbiol. – 2010. – № 144(1–2). – P. 160–165. – DOI 10.1016/j.vetmic.2009.12.043.

312. *Escherichia coli* Expressing EAST1 Toxin Did Not Cause an Increase of cAMP or cGMP Levels in Cells, and No Diarrhea in 5-Day Old Gnotobiotic Pigs / X. Ruan, S. S. Crupper, B. D. Schultz [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – № 7(8). – P. e0043203. – DOI 10.1371/journal.pone.0043203.

313. *Escherichia coli* in Europe: An Overview / N. Allocati, M. Masulli, M. F. Alexeyev, C. Dillio // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2013. – № 10. – P. 6235–6254. – DOI 10.3390/ijerph10126235.

314. *Escherichia coli* Pathobionts Associated with Inflammatory Bowel Disease / H. C. Mirsepasi-Lauridsen, B. A. Vallance, K. A. Krogfelt, A. M. Petersen //

Clin Microbiol Rev. – 2019, Jan 30. – № 32(2). – P. e00060-18. – DOI 10.1128/CMR.00060-18.

315. *Escherichia coli* Strains Producing Selected Bacteriocins Inhibit Porcine Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) under both In Vitro and In Vivo Conditions / M. Hrala, J. Bosák, L. Micenková [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2021, Jun. 25. – № 87(14). – e0312120. – DOI 10.1128/AEM.03121-20.

316. EspP, a serine protease of enterohemorrhagic *Escherichia coli*, impairs complement activation by cleaving complement factors C3/C3b and C5 / D. Orth, S. Ehrlenbach, J. Brockmeyer [et al.] // Infect. Immun. – 2010. – № 78(10). – P. 4294–4301. – DOI 10.1128/IAI.00488-10.

317. Evaluation of heat-labile enterotoxins type IIa and type IIb in the pathogenicity of enterotoxigenic *Escherichia coli* for neonatal pigs / T. A. Casey, T. D. Connell, R. K. Holmes, S. C. Whipp // Vet. Microbiol. – 2012. – № 159(1–2). – P. 83–89. – DOI 10.1016/j.vetmic.2012.03.018.

318. Evaluation of oral administration of bacteriophages to neonatal calves: phage survival and impact on fecal *Escherichia coli* / M. L. S. Bicalho, V. S. Machado, D. V. Nydam [et al.] // Livest Sci. – 2012. – № 144. – P. 294–299.

319. Evans, M. L. Curli biogenesis: order out of disorder / M. L. Evans, M. R. Chapman // Biochim. Biophys. Acta. – 2014. – № 1843(8). – P. 1551–1558. – DOI 10.1016/j.bbamcr.2013.09.010.

320. Fabbri, A. *Escherichia coli* Cytotoxic Necrotizing Factor 1 (CNF1): Toxin Biology, in Vivo Applications and Therapeutic Potential / A. Fabbri, S. Travaglione, C. Fiorentini // Toxins. – 2010. – № 2(2). – P. 283–296. – DOI 10.3390/TOXINS2020282.

321. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age / M. C. Windeyer, K. E. Leslie, S. M. Godden [et al.] // Preventive Veterinary Medicine. – 2014. – № 2. – P. 231–240. – DOI 10.1016/j.prevetmed.2013.10.019.

322. Fecal microbiota dynamics and its relationship to diarrhea and health in dairy calves / H. Chen, Y. Liu, K. Huang [et al.] // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2022, Oct. 28. – № 13(1). – P. 132. – DOI 10.1186/s40104-022-00758-4.

323. Fecal Microbiota Transplantation Shows Marked Shifts in the Multi-Omic Profiles of Porcine Post-weaning Diarrhea / Y. Su, X. Li, D. Li, J. Sun // *Front Microbiol.* – 2021, Feb 23. – № 12. – P. 619460. – DOI 10.3389/fmicb.2021.619460.

324. Fleckenstein, J. M. Designing Vaccines to Neutralize Effective Toxin Delivery by Enterotoxigenic *Escherichia coli* / J. M. Fleckenstein, A. Sheikh // *Toxins.* – 2014. – № 6. – P. 1799–1812. – DOI 10.3390/toxins6061799.

325. Fleckenstein, J. M. Emerging Themes in the Molecular Pathogenesis of Enterotoxigenic *Escherichia coli* / J. M. Fleckenstein, A. Sheikh // *J Infect Dis.* – 2021. – № 224(12, Suppl 2). – P. 813–820. – DOI 10.1093/infdis/jiab359.

326. Fleckenstein, J. M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* Infections / J. M. Fleckenstein, F. M. Kuhlmann // *Curr. Infect. Dis. Rep.* – 2020. – № 21(3). – P. 9. – DOI 10.1007/S11908-019-0665-X.

327. Frey, J. RTX Toxins of Animal Pathogens and Their Role as Antigens in Vaccines and Diagnostics / J. Frey // *Toxins.* – 2019. – № 11. – P. 719. – DOI 10.3390/toxins11120719.

328. Frydendahl, K. Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches / K. Frydendahl // *Vet. Microbiol.* – 2002. – № 85(2). – P. 169–182. – DOI 10.1016/s0378-1135(01)00504-1.

329. Functional analysis of the protein machinery required for transport of lipopolysaccharide to the outer membrane of *Escherichia coli* / P. Sperandio, F. K. Lau, A. Carpentieri [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2008. – № 190(13). – P. 4460–4469. – DOI 10.1128/JB.00270-08.

330. Genotoxic *Escherichia coli* Strains Encoding Colibactin, Cytolethal Distending Toxin, and Cytotoxic Necrotizing Factor in Laboratory Rats / S. A. Kurnick, A. J. Mannion, Y. Feng [et al.] // *Comparative Medicine.* – 2019. – № 69(2). – P. 103–113. – DOI 10.30802/AALAS-CM-18-000099.

331. Genotypes, antibiogram, and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Escherichia coli* strains from piglets in Korea / S. I. Lee, N. Rayamahji, W. J. Lee

[et al.] // J. Vet. Diagn. Investig. – 2009. – № 21(4). – P. 510–516. – DOI 10.1177/104063870902100413.

332. Girard, M. Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs / M. Girard, G. Bee // Animal. – 2020, Jan. – № 14(1). – P. 95–107. – DOI 10.1017/S1751731119002143.

333. Glutamine deamidation and dysfunction of Ubiquitin/NEDD8 by a bacterial effector family / J. Cui, Q. Yao, Li S., X. Ding [et al.] // Science. – 2010. – № 329(5996). – P. 1215–1218. – DOI 10.1126/science.1193844.

334. Gonzalez, A. G. M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the animal reservoir and food in Brazil / A. G. M. Gonzalez, A. M. F. Cerqueira, M. Girard // J. Appl. – Microbiol. – 2020. – №128(6). – P. 1568–1582. – DOI 10.1111/jam.14500.

335. Guler, L. Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from calves in Turkey / L. Guler, K. Giindiiz // Zoonoses and Public Health. – 2008. – Vol. 55, № 5. – P. 249–257.

336. Gut microbiome colonization and development in neonatal ruminants: Strategies, prospects, and opportunities / M. A. Arshad, F. U. Hassan, M. S. Rehman [et al.] // Anim Nutr. – 2021, Sep. – № 7(3). – P. 883–895. – DOI 10.1016/j.aninu.2021.03.004.

337. Gyles, C. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview / C. Gyles // J. Anim. Sci. – 2007. – № 85(13 Suppl.). – P. 45–62. – DOI 10.2527/jas.2006-508.

338. Hampton, H. G. The arms race between bacteria and their phage foes / H. G. Hampton, B. N. J. Watson, P. C. // Fineran. Nature. – 2020. – № 577. – P. 327–336. – DOI 10.1038/s41586-019-1894-8.

339. Harrington, S. M. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infections / S. M. Harrington, E. G. Dudley, J. P. Nataro // FEMS Microbiology Letters. – 2006, January. – Vol. 254, Iss. 1. – P. 12–18. – DOI 10.1111/J.1574-6968.2005.00005.X.

340. Heat labile enterotoxin of *E. coli*: a potential adjuvant for transcutaneous cancer immunotherapy / J. Pitcovski, Z. Bazak, E. Wasserman [et al.] // Vaccine. – 2006. – № 24(5). – P. 636–643. – DOI 10.1016/j.vaccine.2005.08.052.

341. Heat-labile enterotoxin promotes *Escherichia coli* adherence to intestinal epithelial cells / A. M. Johnson, R. S. Kaushik, D. H. Francis [et al.] // J. Bacteriol. – 2009. – № 191. – P. 178–186. – DOI 10.1128/JB.00822-08.
342. Heat-Stable Enterotoxins of Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Their Impact on Host Immunity / H. Wang, Z. Zhong, Yu. Luo [et al.] // Toxins. – 2019. – № 11(1). – P. 24. – DOI 10.3390/toxins11010024.
343. Hegde, A. Effect of stress on production of heat labile enterotoxin by *Escherichia coli* / A. Hegde, G. K. Bhat, S. Mallya // Indian J Med Microbiol. – 2009. – № 27(4). – P. 325–328. – DOI 10.4103/0255-0857.55446.
344. High Affinity Binding of *Escherichia coli* Cytotoxic Necrotizing Factor 1 (CNF1) to Lu/BCAM Adhesion Glycoprotein / F. Reppin, S. Cochet, W. El Nemer [et al.] // Toxins. – 2018. – № 10(1). – P. 3. – DOI 10.3390/toxins10010003.
345. Histopathological manifestation of *Escherichia* toxicoinfection in rabbits in acute experience / A. Tishchenko, V. Terekhov, N. Pimenov [et al.] // AIP Conf. Proc. – 2024, 14 June. – № 3184 (1). – P. 020011. – DOI 10.1063/5.0212020.
346. Hunt, S. Hemolysin E (HlyE, ClyA, SheA) and Related Toxins / S. Hunt, J. Green, P. J. Artymiuk // Advances in Experimental Medicine and Biology / G. Anderluh, J. Lakey (eds) // In : Proteins Membrane Binding and Pore Formation. – 2010. – Vol. 677. – Springer, New York, NY. – DOI 10.1007/978-1-4419-6327-7_10.
347. Hur, J. Development of a novel live vaccine delivering enterotoxigenic *Escherichia coli* fimbrial antigens to prevent post-weaning diarrhea in piglets / J. Hur, J. H. Lee // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2012, May 15. – № 146(3–4). – P. 283–288. – DOI 10.1016/j.vetimm.2012.02.002.
348. Identification of new heat-stable (STa) enterotoxin allele variants produced by human enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) / E. Joffre, A. von Mentzer, A. M. Svennerholm, A. Sjöling // Int. J. Med. Microbiol. – 2016. – № 306(7). – P. 586–594. – DOI 10.1016/j.ijmm.2016.05.016.
349. Identification of the core bacteria in rectums of diarrheic and non-diarrheic piglets / J. Sun, L. Du, X. Li [et al.] // Sci Rep. – 2019, Dec 10. – № 9(1). – P. 18675. – DOI 10.1038/s41598-019-55328-y.

350. Immunobiological resistance and humoral protection factors in animals / V. Terekhov, A. Tishchenko, N. Pimenov, R. Ivannikova // AIP Conference Proceedings : 2, Krasnoyarsk, 29–31 июля 2021 г. – Krasnoyarsk, 2022. – P. 070067. – DOI 10.1063/5.0092550.

351. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli* / A. Clements, J. C. Young, N. Constantinou, G. Frankel // Gut Microbes. – 2012. – № 3(2). – P. 71–81. – DOI 10.4161/gmic.19182.

352. Infectious Diseases of the Gastrointestinal Tract / S. F. Peek, S. M. McGuirk, R. W. Sweeney, K. J. Cummings // Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. – 2018. – P. 249–356. – DOI 10.1016/B978-0-323-39055-2.00006-1.

353. IRSp53 links the enterohemorrhagic *E. coli* effectors Tir and EspFU for actin pedestal formation / S. M. Weiss, M. Ladwein, D. Schmidt [et al.] // Cell Host Microbe. – 2009. – № 5(3). – P. 244–258. – DOI 10.1016/j.chom.2009.02.003.

354. Isolation and antibiogram of *Escherichia coli* O157: H7 from diarrhoeic calves in urban and peri-urban dairy farms of Hawassa town / H. Fesseha, M. Mathewos, A. Saliman, E. Mekonnen // Vet. Med. Sci. – 2021, Dec. – № 15. – DOI 10.1002/vms3.686.

355. Kaper, J. B. Pathogenic *Escherichia coli* / J. B. Kaper, J. P. Nataro, H. L. Mobley // Nat. Rev. Microbiol. – 2004. – № 2. – P. 123–140. – DOI 10.1038/nrmicro818.

356. Keykhaei, N. S. S. Frequency of k99, stx1, and stx2 Virulence Factors in *Escherichia coli* isolated from Diarrheic and Clinically Healthy Suckling Calves in Sistan and Baluchistan Province, Iran / N. S. S. Keykhaei, A. Rashki // Arch Razi Inst. – 2021, Jul. – № 76(2). – P. 283–291. – DOI 10.22092/ari.2019.124040.1268.

357. Koh, E. I. Microbial Copper-binding Siderophores at the Host-Pathogen Interface / E. I. Koh, J. P. Henderson // J Biol Chem. – 2015. – № 290(31). – P. 18967–18974. – DOI 10.1074/jbc.R115.644328.

358. Kolenda, R. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli* / R. Kolenda, M. Burdukiewicz, P. Schierack // Frontiers in Cellu-

lar and Infection Microbiology. – 2015. – № 5 – P. 23 – DOI 10.3389/fcimb.2015.00023.

359. Kwon, D. Genotypic prevalence of the fimbrial adhesions (F4, F5, F6, F41 and F18) and toxins (LT, STa, STb, Stx2e) in *Escherichia coli* isolated from post-weaning pigs with diarrhea pr oedema disease in Korea / D. Kwon // Veter. Rec. – 2002. – № 150(2). – P. 35–37. – DOI 10.1136/vr.150.2.35.

360. *Lactobacillus reuteri* improves the development and maturation of fecal microbiota in piglets through mother-to-infant microbe and metabolite vertical transmission / G. Wang, X. Wang, Y. Ma [et al.] // Microbiome. – 2022, Dec. 2. – № 10(1). – P. 211. – DOI 10.1186/s40168-022-01336-6.

361. Lactulose and *Lactobacillus plantarum*, a potential complementary synbiotic to control postweaning colibacillosis in piglets / A. A. Guerra-Ordaz, G. González-Ortiz, R. M. La Ragione [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2014. – № 80(16). – P. 4879–4886. – DOI 10.1128/AEM.00770-14.

362. Lee, K. S. *Escherichia coli* Shiga Toxins and Gut Microbiota Interactions / K. S. Lee, Y. J. Jeong, M. S. Lee // Toxins. – 2021. – № 13. – P. 416. – DOI 10.3390/toxins13060416.

363. Lee, M. S. Roles of Shiga Toxins in Immunopathology / M. S. Lee, V. L. Tesh // Toxins. – 2019. – № 11(4). – P. 212. – DOI 10.3390/toxins11040212.

364. Lindblad, E. B. Aluminium adjuvants — in retrospect and prospect / E. B. Lindblad // Vaccine. – 2004. – Vol. 22. – P. 3658–3668.

365. Long Polar Fimbriae of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Bind to Extracellular Matrix Proteins / M. J. Farfan, L. Cantero, R. Vidal [et al.] // Infection and Immunity. – 2011. – № 79(9). – P. 3744–3750. – DOI 10.1128/IAI.05317-11.

366. Lu, T. Application of a Novel Epitope- and Structure-Based Vaccinology-Assisted Fimbria-Toxin Multiepitope Fusion Antigen of Enterotoxigenic *Escherichia coli* for Development of Multivalent Vaccines against Porcine Postweaning Diarrhea / T. Lu, R. A. Moxley, W. Zhang // Appl Environ Microbiol. – 2020, Nov. 24. – № 86(24). – e00274-20. – DOI 10.1128/AEM.00274-20.

367. Luppi, A. Swine enteric colibacillosis: diagnosis, therapy and antimicrobial resistance / A. Luppi // *Porcine Health Management*. – 2017. – № 3. – P. 16. – DOI 10.1186/s40813-017-0063-4.

368. Malmuthuge, N. The Gut Microbiome and Its Potential Role in the Development and Function of Newborn Calf Gastrointestinal Tract / N. Malmuthuge, P. J. Griebel, L. Guan le // *Front Vet Sci*. – 2015, Sep 23. – № 2. – P. 36. – DOI 10.3389/fvets.2015.00036.

369. Management of STEC Gastroenteritis: Is There a Role for Probiotics? / M. Giordano, M. E. Baldassarre, V. Palmieri [et al.] // *Int. J. Environ Res Public Health*. – 2019, May 12. – № 16(9). – P. 1649. – DOI 10.3390/ijerph16091649.

370. Markowiak, P. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition / P. Markowiak, K. Śliżewska // *Gut Pathog*. – 2018. – № 10. – P. 21. – DOI 10.1186/S13099-018-0250-0.

371. Maternal imprinting of the neonatal microbiota colonization in intrauterine growth restricted piglets: a review / L. Jiang, C. Feng, S. Tao [et al.] // *J. Anim. Sci. Biotechnol*. – 2019, Nov 11. – P. 10–88. – DOI 10.1186/s40104-019-0397-7.

372. Mazgaen, L. Recent Advances in Lipopolysaccharide Recognition Systems / L. Mazgaen, P. Gurung // *Int. J. Mol. Sci*. – 2020. – № 21. – P. 379. – DOI 10.3390/ijms21020379.

373. McWilliams, B. D. EHEC Adhesins / B. D. McWilliams, A. G. Torres // *Microbiol. Spectr*. – 2014. – № 2(2). – EHEC-0003-2013 – DOI 10.1128/microbiolspec.EHEC-0003-2013.

374. Meganck, V. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy / V. Meganck, G. Hoflack, G. Opsomer // *Acta. Vet. Scand*. – 2014, Nov. 25. – № 56(1). – P. 75. – DOI 10.1186/s13028-014-0075-x.

375. Melkebeek, V. ETEC vaccination in pigs / V. Melkebeek, B. M. Goddeeris, E. Cox // *Vet. Immunol. Immunopathol*. – 2013, Mar 15. – № 152(1–2). – P. 37–42. – DOI 10.1016/j.vetimm.2012.09.024.

376. Ménard, L. P. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1): a new toxin with an old twist / L. P. Ménard, J. D. Dubreuil // Crit. Rev. Microbiol. – 2002. – № 28(1). – P. 43–60. – DOI 10.1080/1040-840291046687.
377. Menge, C. Molecular Biology of *Escherichia coli* Shiga Toxins Effects on Mammalian Cells / C. Menge // Toxins. – 2020. – № 12(5). – P. 345. – DOI 10.3390/toxins12050345.
378. Menge, C. The Role of *Escherichia coli* Shiga Toxins in STEC Colonization of Cattle / C. Menge // Toxins (Basel). – 2020, Sep 21. – № 12(9). – P. 607. – DOI 10.3390/toxins12090607.
379. Methodology and application of *Escherichia coli* F4 and F18 encoding infection models in post-weaning pigs / D. Luise, C. Lauridsen, P. Bosi [et al.] // J. Animal. Sci. Biotechnol. – 2019. – № 10. – P. 53. – DOI 10.1186/s40104-019-0352-7.
380. Mirhoseini, A. Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it / A. Mirhoseini, J. Amani, S. Nazarian // Microb. Pathog. – 2018, Apr. – № 117. – P. 162–169. – DOI 10.1016/j.micpath.2018.02.032.
381. Molecular Analysis of Cytolysin A (ClyA) in Pathogenic *Escherichia coli* Strains / A. Ludwig, C. von Rhein, S. Bauer [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2004. – № 186(16). – P. 5311–5320. – DOI 10.1128/JB.186.16.5311–5320.2004.
382. Molecular characterization of cytolethal distending toxin gene+ *Escherichia coli* from healthy cattle and swine in Nara, Japan / A. Hinenoya, K. Shima, M. Asakura [et al.] // BMC Microbiol. – 2014. – № 14. – P. 97. – DOI 10.1186/1471-2180-14-97.
383. Molecular cloning and characterization of the afa-7 and afa-8 gene clusters encoding afimbrial adhesins in *Escherichia coli* strains associated with diarrhea or septicemia in calves / L. Lalioui, M. Jouve, P. Gounon, C. Le Bouguenec // Infect. Immun. – 1999. – № 67(10). – P. 5048–5059. – DOI 10.1128/IAI.67.10.5048-5059.1999.
384. Mudrak, B. Heat-Labile Enterotoxin: Beyond GM1 Binding / B. Mudrak, M. J. Kuehn // Toxins. – 2010. – № 2. – P. 1445–1470. – DOI 10.3390/toxins2061445.

385. Nagy, B. Adhesins and receptors for colonization by different pathotypes of *Escherichia coli* in calves and young pigs / B. Nagy, I. Tóth, P. Zs. Fekete // In Biology of Growing Animals. – 2005. – № 2. – P. 157–190. – DOI 10.1016/S1877-1823(09)70041-4.

386. Nassour, H. *Escherichia coli* STb enterotoxin dislodges claudin-1 from epithelial tight junctions / H. Nassour, J. D. Dubreuil // PLoS ONE. – 2014. – № 9(11). – P. 0113273. – DOI 10.1371/journal.pone.0113273.

387. Nataro, J. P. Diarrheagenic *Escherichia coli* / J. P. Nataro, J. B. Kaper // Clinical Microbiology Reviews. – 1998. – № 11(1). – P. 142–201. – DOI 10.1128/CMR.11.1.142.

388. Nataro, J. P. Enteroaggregative *Escherichia coli* / J. P. Nataro, T. Steiner, R. L. Guerrant // Emerging Infectious Diseases. – 1998. – № 4(2). – P. 251–261. – DOI 10.3201/eid0402.980212.

389. Navarro-Garcia, F. Host-Toxin Interactions Involving EspC and Pet, Two Serine Protease Autotransporters of the Enterobacteriaceae / F. Navarro-Garcia, M. Sonnested, K. Teter // Toxins. – 2010. – № 2. – P. 1134–1147. – DOI 10.3390/toxins2051134.

390. Nedeljković, M. Bacterial Flagellar Filament: A Supramolecular Multifunctional Nanostructure / M. Nedeljković, D. E. Sastre, E. J. Sundberg // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – № 22(14). – P. 7521. – DOI 10.3390/ijms22147521.

391. New adhesin of enteroaggregative *Escherichia coli* related to the Afa/Dr/AAF family / N. Boisen, C. Struve, F. Scheutz [et al.] // Infect. Immun. – 2008. – № 76(7). – P. 3281–3292. – DOI 10.1128/IAI.01646-07.

392. New Insights Into DAEC and EAEC Pathogenesis and Phylogeny / M. Meza-S., M. B. Zaidi, A. Vera-Ponce de León [et al.] // Front Cell Infect. Microbiol. – 2020, Oct 15. – № 10. – P. 572951. – DOI 10.3389/fcimb.2020.572951.

393. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective / S. K. Verma, P. Mahajan, N. K. Singh [et al.] // Front Immunol. – 2023. – № 14. – P. 1043109. – DOI 10.3389/fimmu.2023.1043109.

394. Newell, D. G. Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? / D. G. Newell, R. M. La Ragione // Transbound Emerg. Dis. – 2018, May. – № 65, Suppl. 1. – P. 49–71. – DOI 10.1111/tbed.12789.
395. Nguyen, T. D. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam / T. D. Nguyen, T. T. Vo, H. Vu-Khac // Journal Veterinary Science. – 2011. – № 12(2). – P. 159–164. – DOI 10.4142/jvs.2011.12.2.159.
396. No Genotoxicity Is Detectable for *Escherichia coli* Strain Nissle 1917 by Standard In Vitro and In Vivo Tests / S. Dubbert, B. Klinkert, M. Schimiczek [et al.] // Eur. J. Microbiol. Immunol. – 2020. – № 10(1). – P. 11–19. – DOI 10.1556/1886.2019.00025.
397. Oligosaccharides increase the genotoxic effect of colibactin produced by pks+ *Escherichia coli* strains / M. Oliero, A. Calvé, G. Frago [et al.] // BMC Cancer. – 2021. – № 21. – P. 172. – DOI 10.1186/s12885-021-07876-8.
398. Omersa, N. Inhibition of Pore-Forming Proteins / N. Omersa, M. Podobnik, G. Anderluh // Toxins. – 2019. – № 11. – P. 545. – DOI 10.3390/toxins11090545.
399. OMV-based vaccine formulations against Shiga toxin producing *Escherichia coli* strains are both protective in mice and immunogenic in calves. / M. Fingerhann, L. Avila, M. B. De Marco [et al.] // Hum Vaccin Immunother. – 2018. – № 14(9). – P. 2208–2213. – DOI 10.1080/21645515.2018.1490381.
400. O-Serogroups and Pathovirotypes of *Escherichia coli* Isolated from Post-Weaning Piglets Showing Diarrhoea and/or Oedema in South Korea / J. W. Byun, B. Y. Moon, K. H. Do [et al.] // Vet. Sci. – 2021, Dec 21. – № 9(1). – P. 1. – DOI 10.3390/vetsci9010001.
401. O-specific polysaccharide confers lysozyme resistance to extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* / Y. Bao, H. Zhang, X. Huang [et al.] // Virulence. – 2018. – № 9. – P. 666–680. – DOI 10.1080/21505594.2018.1433979.
402. Pakbin, B. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review / B. Pakbin, W. M. Brück, J. W. A. Rossen // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – № 22(18). – P. 9922. – DOI 10.3390/ijms22189922.

403. Pandey, K. R. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review / K. R. Pandey, S. R. Naik, B. V. Vakil // J. Food Sci. Technol. – 2015, Dec. – № 52(12). – P. 7577–7587. – DOI 10.1007/s13197-015-1921-1.

404. Passive immunization an old idea revisited: Basic principles and application to modern animal production systems / C. J. Hedegaard [et al.] // Vet. Immunopathol. – 2016. – № 174. – P. 50–63.

405. Patel, S. The current trends and future perspectives of prebiotics research : A review // S. Patel // Biotech. – 2012. – № 2. – P. 115–125. – DOI 10.1007/s13205-012-0044-x.

406. Pathogenic *Escherichia coli*: Molecular and Cellular Microbiology / Ed. S. Morabito. – Publisher : Caister Academic Press. Roma, 2014. – DOI 10.21775/9781910190210.

407. Paton, A. W. *Escherichia coli* subtilase cytotoxin / A.W. Paton, J. C. Paton // Toxins. – 2010. – № 2. – P. 215–228. – DOI 10.3390/toxins2020215.

408. Pereira, A. L. Adhesion of Diarrheagenic *Escherichia coli* and Inhibition by Glycocompounds Engaged in the Mucosal Innate Immunity / A. L. Pereira, L. G. Giugliano // Biology. – 2013. – № 2(2). – P. 810–831. – DOI 10.3390/biology2020810.

409. Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects / R. B. Guevarra, J. H. Lee, S. H. Lee [et al.] // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2019, Jan 14. – № 10. – P. 1. – DOI 10.1186/s40104-018-0308-3.

410. Pluske, J. R. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig / J. R. Pluske, D. L. Turpin, J. C. Kim // Anim. Nutr. – 2018, Jun. – № 4(2). – P. 187–196. – DOI 10.1016/j.aninu.2017.12.004.

411. Pokharel, P. The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial Pathogen / P. Pokharel, S. Dhakal, C. M. Dozois // Microorganisms. – 2023. – № 11(2). – P. 344. – DOI 10.3390/microorganisms11020344.

412. Pons, B. J. Cytolethal Distending Toxin Subunit B: A Review of Structure-Function Relationship / B. J. Pons, J. Vignard, G. Mirey // Toxins. – 2019. – № 11(10). – P. 595. – DOI 10.3390/toxins11100595.

413. Porcine intestinal glycosphingolipids recognized by F6-fimbriated enterotoxigenic *Escherichia coli* / M. M. Johansson, A. Coddens, J. Benktander [et al.] // Microb. Pathog. – 2014. – № 76. – P. 51–60. – DOI 10.1016/j.micpath.2014.09.009.
414. Pore-forming toxins of foodborne pathogens / R. Banerji, A. Karkee, P. Kanojiya, S. D. Saroj // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. – 2021. – № 20(3). – P. 2265–2285. – DOI 10.1111/1541-4337.12737.
415. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies / M. Rhouma, J. M. Fairbrother, F. Beaudry, A. Letellier // Acta Vet. Scand. – 2017, May 19. – № 59(1). – P. 31. – DOI 10.1186/s13028-017-0299-7.
416. Prebiotic inulin: Useful dietary adjuncts to manipulate the livestock gut microflora / A. K. Samanta, N. Jayapal, S. Senani [et al.] // Braz J Microbiol. – 2013, May 7. – № 44(1). – P. 1–14. – DOI 10.1590/S1517-83822013005000023.
417. Prevalence and characterization of verotoxigenic-*Escherichia coli* isolates from pigs in Malaysia / W. S. Ho, L. K. Tan, P. T. Ooi [et al.] // BMC Vet. Res. – 2013. – № 9. – P. 109. – DOI 10.1186/1746-6148-9-109.
418. Prevalence and characterization of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from piglets suffering post-weaning diarrhoea in Shandong Province, China / S. Li, L. Wang, Y. Zhou, Z. Miao // Vet. Med. Sci. – 2020, Feb. – № 6(1). – P. 69–75. – DOI 10.1002/vms3.207.
419. Prevalence and serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in dairy cattle from Northern Portugal / A. Ballem, S. Gonçalves, I. Garcia-Meniño [et al.] // PLoS One. – 2020, Dec 31. – № 15(12). – P. e0244713. – DOI 10.1371/journal.pone.0244713.
420. Prevalence of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Swine Faeces and Lagoons in Bulgaria / L. Dimitrova, M. Kaleva, M. M. Zaharieva [et al.] // Antibiotics. – 2021. – № 10. – P. 940. – DOI 10.3390/antibiotics10080940.
421. Prevalence, molecular typing, and antibiotic sensitivity of enteropathogenic, enterohaemorrhagic, and verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from veal calves / M. Bardiau, A. Muylaert, J.-N. Duprez [et al.] // Tijdschr. Diergeneeskd. – 2010. – № 135(14–15). – P. 554–558. – URL : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20731320/>.

422. Prevention of enterotoxigenic escherichiosis as a way to stabilize the ecological situation of anthropogenic pollution by antibiotic-resistant strains / A. Tishchenko, V. Terekhov, N. Pimenov, R. Ivannikova // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, 18–20 ноября 2021 г. – Krasnoyarsk : IOP Publishing Ltd, 2022. – DOI 10.1088/1755-1315/981/4/042067.

423. Protection against Shiga Toxins / S. Kavaliauskiene, A. B. D. Lingelem, T. Skotland, K. Sandvig // Toxins. – 2017. – P. 9–44. – DOI 10.3390/toxins9020044.

424. Protective immunity of a Multivalent Vaccine Candidate against piglet diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in a pig model / H. Zhang, Y. Xu, Z. Zhang [et al.] // Vaccine. – 2018, Jan 29. – № 36(5). – P. 723–728. – DOI 10.1016/j.vaccine.2017.12.026.

425. Purification and Characterization of Native and Vaccine Candidate Mutant Enterotoxigenic *Escherichia coli* Heat-Stable Toxins / M. L. Govasli, Y. Diaz, E. D. Zegeye [et al.]. // Toxins. – 2018. – № 10(7). – P. 274. – DOI 10.3390/toxins10070274.

426. Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli* / M. A. Croxen, R. J. Law, R. Scholz [et al.] // Clinical Microbiology Reviews. – 2013. – № 26(4). – P. 822–880. – DOI 10.1128/CMR.00022-13.

427. Relationship of Adhesive and Toxigenic Properties of *Escherichia coli* Isolated from Calves and Piglets / A. Tishchenko, V. Terekhov, N. Pimenov [et al.] // Sustainable Development: Agriculture, Veterinary Medicine and Ecology (VMAEE-II-2023) : II International Conference, Karshi, 21–22 апреля 2023 г. – Vol. 3011. – New York : AIP PUBLISHING, 2023. – P. 20032. – DOI 10.1063/5.0161303.

428. Remodeling of the maternal gut microbiome during pregnancy is shaped by parity / A. S. F. Berry, M. K. Pierdon, A. M. Misic [et al.] // Microbiome. – 2021. – № 9. – P. 146. – DOI 10.1186/S40168-021-01089-8.

429. Reversible senescence of human colon cancer cells after blockage of mitosis/cytokinesis caused by the CNF1 cyclomodulin from *Escherichia coli* / Z. Zhang, K. M. Aung, B. E. Uhlin, S. N. Wai // Sci. Rep. – 2018. – № 8(1). – P. 17780. – DOI 10.1038/s41598-018-36036-5.

430. Review of Newly Identified Functions Associated With the Heat-Labile Toxin of Enterotoxigenic *Escherichia coli* / Q. Duan, P. Xia, R. Nandre [et al.] // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2019. – № 9. – P. 292. – DOI 10.3389/fcimb.2019.00292.

431. Review on Preventive Measures to Reduce Post-Weaning Diarrhoea in Piglets / N. Canibe, O. Højberg, H. Kongsted [et al.] // Animals. – 2022. – № 12. – P. 2585. – DOI 10.3390/ani12192585.

432. Riley Lee, W. Distinguishing Pathovars from Nonpathovars: *Escherichia coli* / W. Riley Lee // Microbiol. Spectr. – 2020, Dec. – № 8(4). – DOI 10.1128/microbiolspec.AME-0014-2020.

433. Ristow, L. C. RTX Toxins Ambush Immunity's First Cellular Responders / L. C. Ristow, R. A. Welch // Toxins. – 2019. – № 11. – P. 720. – DOI 10.3390/toxins11120720.

434. Roderer, D. Assembly mechanism of the α -pore-forming toxin cytolysin A from *Escherichia coli* / D. Roderer, R. Glockshuber // Phil. Trans. R. Soc. B. – 2017. – № 372. – DOI 10.1098/rstb.2016.0211.

435. Role of Heat-Stable Enterotoxins in the Induction of Early Immune Responses in Piglets after Infection with Enterotoxigenic *Escherichia coli* / M. Loos, M. Geens, S. Schauvliege [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – № 7(7). – e41041. – DOI 10.1371/journal.pone.0041041.

436. Role of Pore-Forming Toxins in Bacterial Infectious Diseases / F. C. O. Los, T. M. Randis, R. V. Aroian, A. J. Ratner // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2013. – № 77(2). – P. 173–207. – DOI 10.1128/MMBR.00052-12.

437. Rose, R. Effects of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin b on small intestinal villi in pigs, rabbits, and lambs / R. Rose, S. C. Whipp, H. W. Moon // Vet. Pathol. – 1987. – № 24(1). – P. 71–79. – DOI 10.1177/030098588702400112.

438. Ruan, X. Oral immunization of a live attenuated *Escherichia coli* strain expressing a holotoxin-structured adhesin-toxoid fusion (1FaeG-FedF-LTA₂:5LTB) protected young pigs against enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) infection / X. Ruan,

W. Zhang // Vaccine. – 2013, Mar 1. – № 31(11). – P. 1458–1463. – DOI 10.1016/j.vaccine.2013.01.030.

439. Safety and Immunogenicity of a Chimeric Subunit Vaccine against Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Pregnant Cows / R. M. Vidal, D. A. Montero, F. Del Canto [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – № 24. – P. 2771. – DOI 10.3390/ijms24032771.

440. Schwidder, M. Genetics, Toxicity, and Distribution of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Hemolysin / M. Schwidder, L. Heinisch, H. Schmidt // Toxins. – 2019. – № 11. – P. 502. – DOI 10.3390/toxins11090502.

441. Secreted autotransporter toxin (Sat) induces cell damage during enteroaggregative *Escherichia coli* infection / P. C. G. Vieira, A. O. Espinoza-Culupu, R. Nepomuceno [et al.] // PLoS ONE. – 2020. – № 15(2). – e0228959. – DOI 10.1371/journal.pone.0228959.

442. Servin, A. L. Pathogenesis of Human Diffusely Adhering *Escherichia coli* Expressing Afa/Dr Adhesins (Afa/Dr DAEC): Current Insights and Future Challenges / A. L. Servin // Clinical Microbiology Reviews. – 2014. – № 27(4). – P. 823–869. – DOI 10.1128/CMR.00036-14.

443. Seven-Year Evolution of β -Lactam Resistance Phenotypes in *Escherichia coli* Isolated from Young Diarrheic and Septicaemic Calves in Belgium / V. Guérin, A. Farchi, D. Thiry [et al.] // Vet. Sci. – 2022, Jan 26. – № 9(2). – P. 45. – DOI 10.3390/vetsci9020045.

444. Shahrani, M. Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran / M. Shahrani, F. S. Dehkordi, H. Momtaz // Biol Res. – 2014. – № 47(1). – P. 28. – DOI 10.1186/0717-6287-47-28.

445. Shiga toxins / J. Bergan, A. B. Dyve Lingelem, R. Simm [et al.] // Toxicon. – 2012. – № 60(60). – P. 1085–1107. – DOI 10.1016/j.toxicon.2012.07.016.

446. Shiga Toxins as Multi-Functional Proteins: Induction of Host Cellular Stress Responses, Role in Pathogenesis and Therapeutic Applications / M. S. Lee,

S. Koo, D. G. Jeong, V. L. Tesh // *Toxins*. – 2016. – № 8(3). – P. 77. – DOI 10.3390/toxins8030077.

447. Short communication : Investigation of antibiotic alternatives to improve health and growth of veal calves / J. A. Pempek, E. Holder, K. L. Proudfoot [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2018, May. – № 101(5). – P. 4473–4478. – DOI 10.3168/jds.2017-14055.

448. Smith, J. L. 4th. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* / J. L. Smith, P. M. Fratamico, N. W. Gunther // *Adv. Appl. Microbiol.* – 2014. – № 86. – P. 145–197. – DOI 10.1016/B978-0-12-800262-9.00003-2.

449. Stein, R. A. *Escherichia coli*, cattle and the propagation of disease / R. A. Stein, D. E. Katz // *FEMS Microbiology Letters*. – 2017. – Vol. 364, № 6. – P. 11. – DOI 10.1093/femsle/fnx050.

450. Stephan, R. Prevalence and characteristics of shigatoxin-producing *E. coli* (STEC) in fecal samples from farm animals at slaughter in Switzerland – a review / R. Stephan // *Mitt. Lebensm. – Untersuch. und Hyg.* – 2006. – № 1. – P. 30–40.

451. Structural Basis of the Pore-Forming Toxin/Membrane Interaction / Y. Li, H. M. Mengist, C. Shi [et al.] // *Toxins*. – 2021. – № 13. – P. 128. – DOI 10.3390/toxins13020128.

452. Structure and bioactivity of colibactin / K. M. Wernke, M. Xue, A. [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2020. – № 30(15). – P. 127280. – DOI 10.1016/j.bmcl.2020.127280.

453. Structure and Function of the Fecal Microbiota in Diarrheic Neonatal Piglets / Q. Yang, X. Huang, S. Zhao [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2017, Mar 24. – № 8. – P. 502. – DOI 10.3389/fmicb.2017.00502.

454. Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens / B. Liu, A. Furevi, A. V. Perepelov [et al.] // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2020. – № 44(6). – P. 655–683. – DOI 10.1093/femsre/fuz028.

455. Structure of CFA/I fimbriae from enterotoxigenic *Escherichia coli* / Y. F. Li, S. Poole, K. Nishio [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. – USA*, 2009. – № 106. – P. 10793–10798. – DOI 10.1073/pnas.0812843106.

456. Study of a classification algorithm for AIEC identification in geographically distinct *E. coli* strains / C. Camprubí-Font, P. Bustamante, R. M. Vidal O'Brien [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020, May 15. – № 10(1). – P. 8094. – DOI 10.1038/s41598-020-64894-5.

457. Sun, Y. Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea / Y. Sun, S. W. Kim // *Anim Nutr.* – 2017. – № 3(4). – P. 322–330. – DOI 10.1016/j.aninu.2017.10.001.

458. Suna, H. X. Advances in saponin-based adjuvants / H. X. Suna, Y. Xiea, Y. P. Ye // *Vaccine.* – 2009. – № 27. – P. 1787–1796.

459. Swine enteric colibacillosis: Current treatment avenues and future directions / J. Castro, M. M. Barros, D. Araújo [et al.] // *Front. Vet. Sci.* – 2022. – № 28(9). – P. 981207. – DOI 10.3389/fvets.2022.981207.

460. Synergistic immunomodulatory activity of probiotics *bifidobacterium animalis* and *lactobacillus casei* in enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC)-infected caco-2 cells / A. F. Ferreira, R. L. L. Braga, M. F. Andrade [et al.] // *Arq Gastroenterol.* – 2021, Oct–Dec. – № 58(4). – P. 433–438. – DOI 10.1590/S0004-2803.202100000-79.

461. The Biology of the Cytolethal Distending Toxins / L. Guerra, X. Cortes-Bratti, R. Guidi, T. Frisan // *Toxins.* – 2011. – № 3(3). – P. 172–190. – DOI 10.3390/toxins3030172

462. The Cytolethal Distending Toxin Contributes to Microbial Virulence and Disease Pathogenesis by Acting As a Tri-Perditious Toxin / M. D. Scuron, K. Boesze-Battaglia, M. Dlakic, B. J. Shenker // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2016. – № 6. – P. 168. – DOI 10.3389/fcimb.2016.00168.

463. The Gut Microbiota of Newborn Calves and Influence of Potential Probiotics on Reducing Diarrheic Disease by Inhibition of Pathogen Colonization / P. Fan, M. Kim, G. Liu [et al.] // *Front Microbiol.* – 2021, Oct 21. – № 12. – P. 772863. – DOI 10.3389/fmicb.2021.772863.

464. The polyamine spermidine modulates the production of the bacterial genotoxin colibactin / C. V. Chagneau, C. Garcie, N. Bossuet-Greif [et al.] // *mSphere.* – 2019. – № 4(5). – e00414-19. – DOI 10.1128/MSN.00414-19.

465. The Polyphosphate Kinase of *Escherichia coli* Is Required for Full Production of the Genotoxin Colibactin / M. Tang-Fichaux, C. V. Chagneau, N. Bossuet-Greif [et al.] // mSphere. – 2020. – № 5(6). – e01195-20. – DOI 10.1128/mSphere.01195-20.

466. The prevalence of causative agents of calf diarrhea in Korean native calves / J. B. Chae, H. C. Kim, J. G. Kang [et al.] // J. Anim. Sci. Technol. – 2021, Jul. – № 63(4). – P. 864–871. – DOI 10.5187/jast.2021.e63.

467. The Role of Probiotics in Alleviating Postweaning Diarrhea in Piglets From the Perspective of Intestinal Barriers / W. Su, T. Gong, Z. Jiang [et al.] // Front Cell. Infect. Microbiol. – 2022, May 30. – № 12. – P. 883107. – DOI 10.3389/fcimb.2022.883107.

468. The Role of the AggR Regulon in the Virulence of the Shiga Toxin-Producing Enterotoxigenic *Escherichia coli* Epidemic O104:H4 Strain in Mice / N. Boisen, A. R. Melton-Celsa, A.-M. Hansen [et al.] // Front Microbiol. – 2019, Aug. 13. – № 10. – P. 1824. – DOI 10.3389/fmicb.2019.01824.

469. The Vacuolating Autotransporter Toxin (Vat) of *Escherichia coli* Causes Cell Cytoskeleton Changes and Produces Non-lysosomal Vacuole Formation in Bladder Epithelial Cells / J. M. Díaz, C. M. Dozois, F. J. Avelar-González [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2020. – № 10. – P. 299. – DOI 10.3389/FCIMB.2020.00299.

470. Tishchenko, A. S. Influence of inactivated toxins of *E. coli* on phagocytic properties of neutrophilic granulocytes / A. S. Tishchenko, V. I. Terekhov // Journal of Agriculture and Environment. – 2019. – № 4(12). – P. 20–24. – DOI 10.23649/jae.2019.4.12.5.

471. Tishchenko, A. The effects of inactive toxins of *escherichia coli* on hematological parameters in animals / A. Tishchenko, V. Terekhov, E. Buabeng // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, 16–19 июня 2021 г. / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering. – Vol. 839. – Krasnoyarsk : IOP Publishing Ltd, 2021. – 52003. – DOI 10.1088/1755-1315/839/5/052003.

472. Transcriptional responses of *Escherichia coli* K-12 and O157:H7 associated with lettuce leaves / R. C. Fink, E. P. Black, Z. Hou [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2012. – № 78(6). – P. 1752–1764. – DOI 10.1128/AEM.07454-11.

473. Truszczyński, M. Edema disease of swine with respect of achieved progress / M. Truszczyński, Z. Pejsak // Med. Weter. – 2014. – № 70(7). – P. 387–390. – URL : https://www.researchgate.net/publication/288116440_Edema_disease_of_swine_with_respect_of_achieved_progress.

474. Type 1 Fimbrial Adhesin FimH Elicits an Immune Response That Enhances Cell Adhesion of *Escherichia coli* / V. Tchesnokova, P. Aprikian, D. Kisiela [et al.] // Infection and Immunity. – 2011. – № 79(10). – P. 3895–3904. – DOI 10.1128/IAI.05169-11.

475. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options / A. L. Flores-Mireles, J. N. Walker, M. Caparon, S. J. Hultgren // Nat. Rev. Microbiol. – 2015. – № 13. – P. 269–284. – DOI 10.1038/nrmicro3432.

476. Utilizing the Gastrointestinal Microbiota to Modulate Cattle Health through the Microbiome-Gut-Organ Axes / C. B. Welch, V. E. Ryman, T. D. Pringle, J. M. Lourenco // Microorganisms. – 2022, Jul 10. – № 10(7). – P. 1391. – DOI 10.3390/microorganisms10071391.

477. Vaccination of pregnant cows with EspA, EspB, gamma-intimin, and Shiga toxin 2 proteins from *Escherichia coli* O157:H7 induces high levels of specific colostrum antibodies that are transferred to newborn calves / B. C. Rabinovitz, E. Gerhardt, F. C. Tironi [et al.] // J. Dairy Sci. – 2012. – № 95(6). – P. 3318–3326. – DOI 10.3168/jds.2011-5093.

478. Vaccine adjuvants: key tools for innovative vaccine design / P. Riese, K. Schulze, T. Ebensen [et al.] // Curr Top Med Chem. – 2013. – № 13(20). – P. 2562–2580. – DOI 10.2174/15680266113136660183.

479. Vaccine Adjuvants: Selection Criteria, Mechanism of Action Associated with Immune Responses and Future Directions / A. Habib, K. M. Anjum, R. Iqbal [et al.] // Iran J. Immunol. – 2023, Mar 14. – № 20(1). – P. 1–15. – DOI 10.22034/iji.2023.94097.2284.

480. Veilleux, S. Presence of *Escherichia coli* carrying the EAST1 toxin gene in farm animals / S. Veilleux, J. D. Dubreuil // Vet. Res. – 2006. – № 37. – P. 3–13. – DOI 10.1051/vetres:2005045.

481. Virulence and antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* encoding mcr gene from diarrhoeic weaned piglets in Korea during 2007-2016 / K. H. Do, H. E. Park, J. W. Byun, W. K. Lee // J. Glob. Antimicrob. Resist. – 2020, Mar. – № 20. – P. 324–327. – DOI 10.1016/j.jgar.2019.09.010.

482. Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves / A. Umpiérrez, D. Ernst, M. Fernández [et al.] // Rev Argent Microbiol. – 2021, Jan–Mar. – № 53(1). – P. 34–38. – DOI 10.1016/j.ram.2020.04.004.

483. Wang, X. Endotoxins: lipopolysaccharides of gram-negative bacteria / X. Wang, P. J. Quinn // Subcell Biochem. – 2010. – № 53. – P. 3–25. – DOI 10.1007/978-90-481-9078-2_1.

484. What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian and pig production in Europe? / I. Kempf, M. A. Fleury, D. Drider [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2013. – № 42(5). – P. 379–383. – DOI 10.1016/j.ijantimicag.2013.06.012.

485. Zhang, W. Genetic fusions of heat-labile toxoid (LT) and heat-stable toxin b (STb) of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* elicit protective anti-LT and anti-STb antibodies / W. Zhang, D. H. Francis // Clin. Vaccine Immunol. – 2010, Aug. – № 17(8). – P. 1223–1231. – DOI 10.1128/CVI.00095-10.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2429012

**СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АССОЦИИРОВАННОЙ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА,
СТРЕПТОКОККОЗА И ЭНТЕРОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ
ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное
образовательное учреждение высшего профессионального
образования "Кубанский государственный аграрный
университет" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2010131633

Приоритет изобретения 27 июля 2010 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 20 сентября 2011 г.

Срок действия патента истекает 27 июля 2030 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной
собственности, патентам и товарным знакам



Б.П. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2432174

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭШЕРИХИОЗНОГО
АНАТОКСИНА**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное учреждение
высшего профессионального образования "Кубанский
государственный аграрный университет" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2010131645

Приоритет изобретения 27 июля 2010 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 27 октября 2011 г.

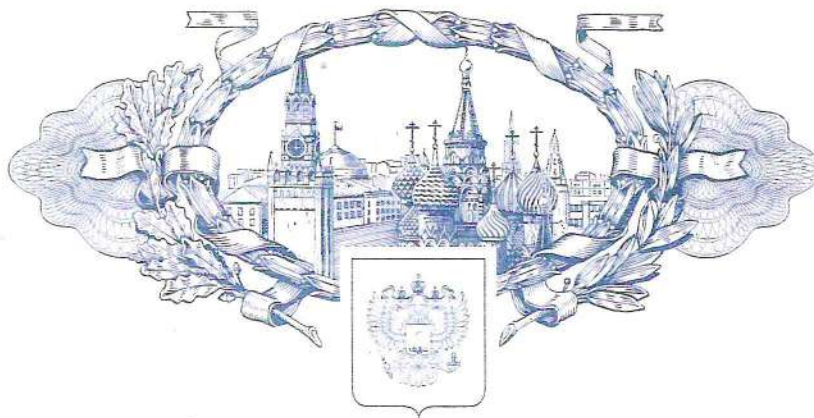
Срок действия патента истекает 27 июля 2030 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной
собственности, патентам и товарным знакам

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2449290

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭРИТРОЦИТАРНОГО
АНТИГЕННОГО ДИАГНОСТИКУМА**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Кубанский государственный аграрный университет" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2009129696

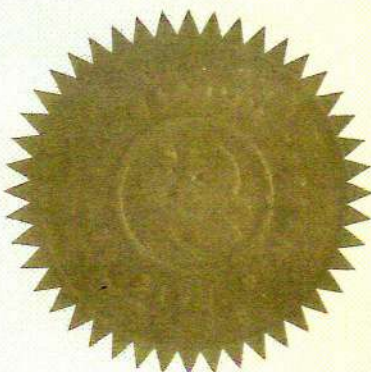
Приоритет изобретения **03 августа 2009 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **27 апреля 2012 г.**

Срок действия патента истекает **03 августа 2029 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Б.П. Симонов



5032

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2649831

Способ профилактики острых кишечных заболеваний у поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Терехов Владимир Иванович (RU), Тищенко Александр Сергеевич (RU), Мартыненко Яна Николаевна (RU)*

Заявка № 2017118737

Приоритет изобретения 29 мая 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 04 апреля 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 мая 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

12-04-2018

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2650604

Способ профилактики острых кишечных заболеваний у
телят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Терехов Владимир Иванович (RU), Тищенко Александр Сергеевич (RU), Мусатова Надежда Сергеевна (RU)*

Заявка № 2017118739

Приоритет изобретения 29 мая 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 16 апреля 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 мая 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Иванев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2650628

Способ получения вакцины ассоциированной против
колибактериоза, стрептококкоза и энтерококковой
инфекции телят и поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Кубанский государственный аграрный университет имени
И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Терехов Владимир Иванович (RU),
Тищенко Александр Сергеевич (RU)*

Заявка № 2017118742

Приоритет изобретения 29 мая 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 17 апреля 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 29 мая 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ильин

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2753410

Способ получения анатоксин-вакцины против эшерихиоза животных

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Терехов Владимир Иванович (RU), Тищенко Александр Сергеевич (RU), Ратников Александр Романович (RU)*

Заявка № 2020101538

Приоритет изобретения 14 января 2020 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 16 августа 2021 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 14 января 2040 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2764600

Вакцина против эшерихиоза телят и поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов Владимир Иванович (RU)*

Заявка № 2021106771

Приоритет изобретения 15 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 18 января 2022 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 15 марта 2041 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2766249

Способ профилактики эшерихиоза у телят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов Владимир Иванович (RU), Степаненко Анастасия Владимировна (RU)*

Заявка № 2021106438

Приоритет изобретения 11 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 10 февраля 2022 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 11 марта 2041 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2766549

Способ профилактики эшерихиоза у поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Терехов Владимир Иванович (RU), Тищенко Александр Сергеевич (RU), Рогач Константин Игоревич (RU)*

Заявка № 2021106288

Приоритет изобретения 10 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 15 марта 2022 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 10 марта 2041 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2806810

Вакцина гидроокись алюминиевая масляная против эшерихиоза телят и поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Кубанский государственный аграрный университет
имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов
Владимир Иванович (RU), Коцаев Андрей Георгиевич
(RU), Алферов Дмитрий Олегович (RU)*

Заявка № 2022129944

Приоритет изобретения 17 ноября 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 07 ноября 2023 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 17 ноября 2042 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2813752

Способ получения гидроокиси алюминиевой масляной вакцины против эшерихиоза телят и поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Кубанский государственный аграрный университет имени
И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов Владимир
Иванович (RU), Коцаев Андрей Георгиевич (RU), Гнеуш Анна
Николаевна (RU), Копыльцов Сергей Васильевич (RU),
Дубенцов Кирилл Константинович (RU)*

Заявка № 2022129945

Приоритет изобретения 17 ноября 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 16 февраля 2024 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 17 ноября 2042 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2813771

Способ профилактики эшерихиоза у телят

Патентообладатель: **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)**

Авторы: **Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов Владимир Иванович (RU), Коцаев Андрей Георгиевич (RU), Яковенко Павел Павлович (RU), Беспечная Нина Игоревна (RU)**

Заявка № 2022129934

Приоритет изобретения 17 ноября 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 16 февраля 2024 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 17 ноября 2042 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2814593

Способ профилактики эшерихиоза у поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина" (RU)*

Авторы: *Тищенко Александр Сергеевич (RU), Терехов Владимир Иванович (RU), Коцаев Андрей Георгиевич (RU), Волостнова Анастасия Александровна (RU), Елисютикова Анастасия Васильевна (RU)*

Заявка № 2022129936

Приоритет изобретения 17 ноября 2022 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 01 марта 2024 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 17 ноября 2042 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

**ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР
«ГКПМ – ОБОЛЕНСК»**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24
Тел. 36-00-03, факс 36-00-10, код (4967), E-mail: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>

**СВИДЕТЕЛЬСТВО
О ДЕПОНИРОВАНИИ**

№ 335

«26» марта 2024 года

Государственная коллекция
патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонировала
для целей национальной патентной процедуры
26 марта 2024 года

авторский штамм микроорганизма

***Escherichia coli* KubGAU B-533 O141:K99**

Особенность (предназначение) штамма: претендент на вакцинный штамм, для изготовления вакцины против эшерихиоза крупного рогатого скота и свиней, обладает генами термолабильного токсина, термостабильного токсина (ST-II) и гемолизина E.

Депозитор: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

Адрес депозитора: 350044, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. Калинина, д. 13. Тел. 221-59-42, факс 221-58-85, код (861), E-mail: mail@kubsau.ru, <http://www.kubsau.ru>

Автор (ы): Тищенко Александр Сергеевич, к.в.н., доцент.

Штамму присвоен регистрационный номер: B-15569

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение.

Директор

СНС отдела
коллекционных культур



И.А. Дятлов

М.В. Фурсов

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ – ОБОЛЕНСК»

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24
Тел. 36-00-03, факс 36-00-10, код (4967), E-mail: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ

№ 336

«26» марта 2024 года

Государственная коллекция
патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонировала
для целей национальной патентной процедуры

26 марта 2024 года

авторский штамм микроорганизма

Escherichia coli KubGAU B-546 O111:F41

Особенность (предназначение) штамма: претендент на вакцинный штамм, для изготовления вакцины против эшерихиоза крупного рогатого скота и свиней, обладает генами токсина RTX α -гемолизина, термолабильного токсина LT, термостабильного токсина (ST-II) и гемолизинов A, D, E.

Депозитор: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

Адрес депозитора: 350044, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. Калинина, д. 13. Тел. 221-59-42, факс 221-58-85, код (861), E-mail: mail@kubsau.ru, <http://www.kubsau.ru>

Автор (ы): Тищенко Александр Сергеевич, к.в.н., доцент.

Штамму присвоен регистрационный номер: B-15570

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение.

Директор

СНС отдела
коллекционных культур



И.А. Дятлов

М.В. Фурсов

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ – ОБОЛЕНСК»

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24
Тел. 36-00-03, факс 36-00-10, код (4967), E-mail: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ

№ 337

«26» марта 2024 года

Государственная коллекция
патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонировала
для целей национальной патентной процедуры

26 марта 2024 года

авторский штамм микроорганизма

***Escherichia coli* KubGAU B-923 O26:K99.**

Область применения штамма: претендент на вакцинный штамм, для изготовления вакцины против эшерихиоза крупного рогатого скота и свиней, обладает генами шигаподобного токсина Stx2e, токсина RTX α -гемолизина, субтилазного токсина AB5, колицина V и гемолизина E.

Депозитор: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

Адрес депозитора: 350044, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. Калинина, д. 13. Тел. 221-59-42, факс 221-58-85, код (861), E-mail: mail@kubsau.ru, <http://www.kubsau.ru>

Автор (ы): Тищенко Александр Сергеевич, к.в.н., доцент.

Штамму присвоен регистрационный номер: B-15571

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение.

Директор

СНС отдела
коллекционных культур



И.А. Дятлов

М.В. Фурсов

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ – ОБОЛЕНСК»

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»
(ФБУН ГНЦ ПМБ)

142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24
Тел. 36-00-03, факс 36-00-10, код (4967), E-mail: info@obolensk.org, <http://www.obolensk.org>

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ

№ 338

«26» марта 2024 года

Государственная коллекция
патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонировала
для целей национальной патентной процедуры
26 марта 2024 года

авторский штамм микроорганизма

Escherichia coli KubGAU B-933 O157:K88

Область применения штамма: претендент на вакцинный штамм, для изготовления вакцины против эшерихиоза крупного рогатого скота и свиней, обладает генами шигаподобного токсина Stx2e, токсина RTX α -гемолизина, субтилазного токсина AB5 и гемолизинов A, D, C, E.

Депозитор: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

Адрес депозитора: 350044, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. Калинина, д. 13. Тел. 221-59-42, факс 221-58-85, код (861), E-mail: mail@kubsau.ru, <http://www.kubsau.ru>

Автор (ы): Тищенко Александр Сергеевич, к.в.н., доцент

Штамму присвоен регистрационный номер: B-15572

Свидетельство выдано для подачи заявки на изобретение.

Директор

СНС отдела
коллекционных культур



И.А. Дятлов

М.В. Фурсов

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного
хозяйства «Кубань»



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2018 г. по 2021 г. был проведен опыт по применению ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции у свиней.

Производственные опыты проводились на 165 поросятах до отъемного возраста. Ассоциированную вакцину против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции иммунизировали свиноматкам первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5,0 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5,0 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 15-17 дней в дозе 0,25 мл, а второй в возрасте 28-30 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции при профилактике острых кишечных заболеваний у поросят позволила снизить заболеваемость по сравнению с группой контроля на 37,7 % и сократить падеж в 4,5 раза. При этом защитный эффект составил 84,9 % при сохранности поросят в группе 96,2 %, что свидетельствует о высокой профилактической эффективности вакцины.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного
хозяйства «Кубань»



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2021 г. по 2023 г. был проведен опыт по применению колианатоксина с минерально-масляным адъювантом у свиней.

Производственные опыты проводились на 220 поросятах до отъемного возраста. Колианатоксин с минерально-масляным адъювантом иммунизировали свиноматкам первый раз за 40 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней до опороса в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали до отъема поросят от свиноматки дважды: первый раз в возрасте 10-12 дней в дозе 0,25 мл, а второй за 5 дней до отъема в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантом, позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят с эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с аналогом на 10,9 %, а в сравнении с группой контроля на 36,4 %, при этом падеж сократился в 2,5-6 раз. Профилактический эффект составил 85,5 %, при сохранности поросят в группе 96,4 %, что свидетельствует о высокой эффективности испытуемой вакцины.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного
хозяйства «Кубань»



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2019 г. по 2023 г. был проведен опыт по применению колианатоксина с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой у крупного рогатого скота.

Производственные опыты проводились на 100 телятах до 40-дневного возраста. Колианатоксин с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой иммунизировали коровам 1-й раз за 30 дней до отёла в дозе 5 мл, 2-й раз за 15 дней до отёла в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с двумя адъювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой позволило более эффективно профилактировать заболевание телят эшерихиозной инфекцией. Применение колианатоксина с адъювантным комплексом позволило снизить заболеваемость телят до 8 %, обеспечить профилактический эффект 92 % и сохранность 100 % поголовья.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор учебно-опытного
хозяйства «Кубань»



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2021 г. по 2023 г. был проведен опыт по применению колианатоксина с минерально-масляным адъювантом у крупного рогатого скота.

Производственные опыты проводились на 100 телятах до 40-дневного возраста. Колианатоксин с минерально-масляным адъювантом иммунизировали коровам первый раз за 45 дней, второй раз за 15 дней до отела в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что иммунизация коров колианатоксином в сочетании с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантом обеспечивает более напряженный и продолжительный специфический иммунитет против эшерихиозной инфекции у новорожденных телят. При этом профилактическая эффективность колианатоксина с минерально-масляным адъювантом составила 88 %, сохранность 100 %.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2019 г. по 2023 г. был проведен опыт по применению ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции у КРС.

Производственные опыты проводились на 75 телятах до 40-дневного возраста. Ассоциированную вакцину против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции иммунизировали коровам первый раз за 30 дней до отёла в дозе 5,0 мл, второй раз за 15 дней до отёла в дозе 10,0 мл. Полученных от этих коров телят иммунизировали первый раз в возрасте 15-20 дней в дозе 1,0 мл, а второй через 10-15 дней в дозе 2,0 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции для профилактики острых кишечных заболеваний у телят позволил снизить заболеваемость по сравнению с аналогом на 12 %, по сравнению с группой отрицательного контроля на 64 % и добиться сохранности телят до 100 % с профилактической эффективностью 92 %.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко



Т. В. Логойда

АКТ

о проведении экспериментальных исследовательских работ докторанта ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» Тищенко Александра Сергеевича по теме диссертационной работы: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» научный консультант доктор биологических наук, профессор Кощаев Андрей Георгиевич

Мы, ниже подписавшиеся, докторант А. С. Тищенко, профессор А. Г. Кощаев, главный ветеринарный врач П. Н. Толочко, ветеринарный врач С. С. Левченко, составили настоящий акт в том, что нами в период с 2019 г. по 2023 г. был проведен опыт по применению колианатоксина с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой у крупного рогатого скота.

Производственные опыты проводились на 220 поросятах до отъемного возраста. Колианатоксин с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой иммунизировали свиноматкам первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 15-17 дней в дозе 0,25 мл, а второй в возрасте 28-30 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с двумя адъювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению со второй опытной группой на 7,3 %, а в сравнении с группой отрицательного контроля на 34,6 %, падеж сократился в 2–5,6 раза, при сохранности и защитном эффекте 96,4 % и 84,5 % соответственно, что свидетельствует о высокой эффективности колианатоксина с адъювантным комплексом.

Представители учхоза «Кубань»

П. Н. Толочко

С. С. Левченко

Научный консультант

А. Г. Кощаев

Докторант

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор НПХ «Кореновское»
филиал ФГБНУ «Национальный
центр зерна им. П.П. Лукьяненко»



Е.А. Команов



УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор



А. И. Трубилин

АКТ

о профилактической эффективности ассоциированной вакцины против
эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции у крупного рогатого
скота

Мы, ниже подписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», в лице главного ветеринарного врача А.В. Пелипенко, с другой стороны, составили настоящий акт о том, что нами на молочно-товарной ферме НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» в период с 2017 г. по 2019 г. была испытана ассоциированная вакцина против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции у крупного рогатого скота, изготовленная на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии Кубанского ГАУ в рамках научно-исследовательской работы «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 75 телятах. Для этого сформировали 3 группы стельных коров. Коров первой группы иммунизировали ассоциированной вакциной против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции первый раз за 30 дней до отёла в дозе 5,0 мл, второй раз за 15 дней до отёла в дозе 10,0 мл. Полученных от этих коров телят иммунизировали первый раз в возрасте 15-20 дней в дозе 1,0 мл, а второй через 10-15 дней в дозе 2,0 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Коров второй группы (положительный контроль) вакцинировали вакциной ОКЗ производства ООО «АГРОВЕТ» (г. Москва) согласно инструкции по ветеринарному применению. В третьей группе (отрицательный контроль) ни коров, ни полученных от них телят не вакцинировали. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста и перевода их другой корпус на групповое содержание. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и сохранности.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции для профилактики острых кишечных заболеваний у телят позволил снизить заболеваемость по сравнению с аналогом на 12 %, по сравнению с группой отрицательного контроля на 64 % и добиться сохранности телят в 100 % с профилактической эффективностью 92 %. При этом экономическая эффективность от применения ассоциированной вакцины составила 1,3 руб. на 1 руб. затрат.

Главный ветеринарный врач
НПХ «Кореновское» филиал
ФГБНУ «Национальный центр
зерна им. П.П. Лукьяненко»

Представители Кубанского ГАУ



А.В. Пелипенко

А.Г. Коцаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор НПХ «Кореновское»
филиал ФГБНУ «Национальный
центр зерна им. П.П. Лукьяненко»

Е.А. Команов



УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор

А. И. Трубилин



АКТ

о профилактической эффективности колианатоксина с минерально-масляным
адьювантом у крупного рогатого скота

Мы, ниже подписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кошаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», в лице главного ветеринарного врача А.В. Пелипенко, с другой стороны, составили настоящий акт о том, что нами на молочно-товарной ферме НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» в период с 2021 г. по 2023 г. был испытан колианатоксин с минерально-масляным адьювантом (Колианатоксин-ГОА+МА) у крупного рогатого скота изготовленный на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии Кубанского ГАУ в рамках научно-исследовательской работы «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 75 телятах. Для этого было сформировано три группы стельных коров. Первую группу коров иммунизировали Колианатоксином–ГОА+МА 1-й раз за 45 дней до отёла в дозе 5 мл, 2-й раз за 15 дней до отёла в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи. Вторую группу коров иммунизировали вакциной Коли-Вак в дозах согласно наставлению. Третья группа коров была контрольной, они не иммунизировались. Эффективность вакцин оценивали по достижении телятами 3-месячного возраста. Критериями оценки служили показатели заболеваемости и летальности.

Результаты проведенных испытаний показали, что профилактическая эффективность Колианатоксина–ГОА+МА составила 88 %, при 76 % во 2-ой группе. В контрольной группе заболеваемость и летальность животных составила 48 % и 50 % соответственно. Следовательно, применение Колианатоксина-ГОА+МА позволило более эффективно профилактировать эшерихиозную инфекцию у телят. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с группой положительного контроля на 12 %, и на 36 % – с группой

отрицательного контроля, при сохранности у телят в 100 %, что свидетельствует о высокой эффективности Колианатоксина-ГОО+МА. При этом экономическая эффективность составила 2,2 руб. на 1 руб. затрат.

Главный ветеринарный врач
НПХ «Кореновское» филиал
ФГБНУ «Национальный центр
зерна им. П.П. Лукьяненко»

Представители Кубанского ГАУ



А.В. Пелипенко

А.Г. Коцаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор НПХ «Кореновское»
филиал ФГБНУ «Национальный
центр зерна им. П.П. Лукьяненко»

Е.А. Команов



УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор

А. И. Трубилин



АКТ

о профилактической эффективности колианатоксина с бактериальным
липополисахаридом и полиакриловой кислотой в качестве адъювантов у
свиней

Мы, ниже подписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», в лице главного ветеринарного врача А.В. Пелипенко, с другой стороны, составили настоящий акт о том, что нами на свинотоварной ферме НПХ «Кореновское» филиал ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» в период с 2019 г. по 2022 г. был испытан колианатоксин с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой в качестве адъювантов (Колианатоксин-ЛПС+ПАК) у свиней, изготовленный на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии Кубанского ГАУ в рамках научно-исследовательской работы «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 165 поросятах до отъемного возраста. Для проведения этого исследования сформировали 3 группы супоросных свиноматок. В первой группе свиноматок иммунизировали Колианатоксином-ЛПС+ПАК. Свиноматок иммунизировали первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 14 дней в дозе 0,25 мл, а второй через 7 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра. Вторую группу свиноматок и полученных от них поросят иммунизировали коммерческой вакциной Коли-Вак в дозах согласно наставлению. Третья группа свиноматок была контрольной, они и полученные от них поросята не иммунизировались. За поросятами в течение 90 дней вели клиническое наблюдение, учитывали количество заболевших и павших животных.

Результаты проведенных испытаний показали, что профилактическая эффективность Колианатоксина-ЛПС+ПАК составила 84,5 % при сохранности поросят в группе 96,4 %. Во 2-й группе заболеваемость по этой группе составила 21,8 %, смертность 7,3 %, профилактическая эффективность 78,2 %, при сохранности 92,7 %. В 3-й группе заболеваемость составила 49,1 %, смертность 20,0 %, а сохранность 80,0 %. Таким образом, применение Колианатоксина-ЛПС+ПАК позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят эшерихиозной инфекцией, при этом заболеваемость снизилась по сравнению со второй группой на 7,3 %, а в сравнении с группой отрицательного контроля на 34,6 %, падеж сократился в 2-5,6 раза, что свидетельствует о высокой эффективности Колианатоксина-ЛПС+ПАК.

Главный ветеринарный врач
НПХ «Кореновское» филиал
ФГБНУ «Национальный центр
зерна им. П.П. Лукьяненко»

Представители Кубанского ГАУ

 А.В. Пелипенко

 А. Г. Кошаев

 А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:
Директор НПХ
«Кореновское»



Е. А. Команов

УТВЕРЖДАЮ:
Ректор Кубанского ГАУ,
профессор



А. И. Трубилин

АКТ

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское», в лице главного ветеринарного врача Пилипенко А.В., с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаевым, докторантом А. С. Тищенко, в НПХ «Кореновское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 165 поросятах до отъемного возраста. Ассоциированную вакцину против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции иммунизировали свиноматкам первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5,0 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5,0 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 15-17 дней в дозе 0,25 мл, а второй в возрасте 28-30 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции при профилактике острых кишечных заболеваний позволила снизить заболеваемость у поросят по сравнению с группой контроля на 37,7 %, падеж сократился в 4,5 раза, при этом защитный эффект составил 84,9 % при сохранности поросят в группе 96,2 %, что свидетельствует о высокой профилактической эффективности вакцины. Экономическая эффективность от применения ассоциированной вакцины составила 1,6 руб. на 1 руб. затрат.

Представитель НПХ «Кореновское»

А. В. Пилипенко

Представители Кубанского ГАУ

А. Г. Кощаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Директор НПХ

«Кореновское»


Е. А. Команов

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,

профессор


А. И. Трубилин

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское», в лице главного ветеринарного врача Пилипенко А.В., с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО Кубанский» ГАУ, профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощевым, докторантом А. С. Тищенко, в НПХ «Кореновское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 220 поросятах до отъемного возраста. Колианатоксин с минерально-масляным адъювантом иммунизировали свиноматкам первый раз за 40 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 15 дней до опороса в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали до отъема поросят от свиноматки дважды: первый раз в возрасте 10-12 дней в дозе 0,25 мл, а второй за 5 дней до отъема в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантом позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят энтеротоксигенной эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с контролем на 36,4 %, падеж сократился в 5,5 раза, профилактическая эффективность составила 85,5 % при сохранности поросят в 96,4 %, что свидетельствует о высокой эффективности иммунобиологического препарата. Экономическая эффективность от применения колианатоксина с минерально-масляным адъювантом составила 2,4 руб. на 1 руб. затрат.

Представитель НПХ «Кореновское»


А. В. Пилипенко

Представители Кубанского ГАУ


А. Г. Кощаев


А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:
Директор НПХ
«Кореновское»



Е. А. Команов



УТВЕРЖДАЮ:
Ректор Кубанского ГАУ,
профессор

А. И. Трубиллин

АКТ

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель НПХ «Кореновское», в лице главного ветеринарного врача Пилипенко А.В., с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО «Кубанский» ГАУ, профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаевым, докторантом А. С. Тищенко, в НПХ «Кореновское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 220 поросятах до отъемного возраста. Колианатоксин с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой иммунизировали свиноматкам первый раз за 30 дней до опороса в дозе 5 мл, второй раз – за 20 дней в дозе 5 мл внутримышечно в область основания ушной раковины. Поросят иммунизировали дважды первый раз в возрасте 15-17 дней в дозе 0,25 мл, а второй в возрасте 28-30 дней в дозе 0,5 мл внутримышечно в области внутренней поверхности бедра.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с двумя адъювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой позволило более эффективно профилактировать заболевание поросят энтеротоксигенной эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с группой контроля на 37,7 %, падеж сократился в 4,5 раза, при сохранности и защитном эффекте 96,2 % и 84,9 % соответственно, что свидетельствует о высокой эффективности колианатоксина с адъювантным комплексом. Экономическая эффективность от применения иммунобиологического препарата составила 2,2 руб. на 1 руб. затрат.

Представитель НПХ «Кореновское»

Представители Кубанского ГАУ

А. В. Пилипенко

А. Г. Кощаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

АО «Приазовское»
генеральный директор



И. А. Сирота

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор



А. И. Трубилин

АКТ

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель АО «Приазовское» Славянского р-на, в главного зоотехника А. А. Перепелица, с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаевым, докторантом А. С. Тищенко, в АО «Приазовское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 100 телятах до 40-дневного возраста. Колианатоксин с минерально-масляным адьювантом иммунизировали коровам первый раз за 45 дней, второй раз за 15 дней до отела в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с гидратом окиси алюминия и масляным адьювантом позволило более эффективно профилактировать заболевание телят энтеротоксигенной эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с контролем на 24 %, профилактическая эффективность составила 88 %, сохранность 100 %, что свидетельствует о высокой эффективности иммунобиологического препарата. Экономическая эффективность от применения колианатоксина с минерально-масляным адьювантом составила 2,2 руб. на 1 руб. затрат.

Главный зоотехник АО «Приазовское»

А. А. Перепелица

Представители Кубанского ГАУ

Кощаев
Тищенко

А. Г. Кощаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

АО «Приазовское»
генеральный директор


И. А. Сирота



УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор




А. И. Трубилин

АКТ

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель АО «Приазовское» Славянского р-на, в главного зоотехника А. А. Перепелица, с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощевым, докторантом А. С. Тищенко, в АО «Приазовское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 100 телятах до 40-дневного возраста. Колианатоксин с бактериальным липополисахаридом и полиакриловой кислотой иммунизировали коровам 1-й раз за 30 дней до отёла в дозе 5 мл, 2-й раз за 15 дней до отёла в дозе 10 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение колианатоксина с двумя адьювантами – пирогеналом и полиакриловой кислотой позволило более эффективно профилактировать заболевание телят энтеротоксигенной эшерихиозной инфекцией. При этом заболеваемость снизилась по сравнению с группой контроля на 24 %, сохранность у телят составила 100 %, при защитном эффекте в 92 %, что свидетельствует о высокой эффективности колианатоксина с адьювантным комплексом. Экономическая эффективность от применения иммунобиологического препарата составила 2,6 руб. на 1 руб. затрат.

Главный зоотехник АО «Приазовское»


А. А. Перепелица

Представители Кубанского ГАУ




А. Г. Кощаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:
АО «Приазовское»
генеральный директор



И. А. Сирота

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Кубанского ГАУ,
профессор



А. И. Трубилин

АКТ

производственного внедрения научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся, представители ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина: профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаев, докторант А. С. Тищенко, с одной стороны, и представитель АО «Приазовское» Славянского р-на, в главного зоотехника А. А. Перепелица, с другой стороны, составили настоящий акт производственного внедрения о том, что сотрудниками ФГБОУ ВО «Кубанский ГАУ», профессором кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, д-р биол. наук А. Г. Кощаевым, докторантом А. С. Тищенко, в АО «Приазовское» внедрена научно-исследовательская работа «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика».

Производственные опыты проводились на 75 телятах до 40-дневного возраста. Ассоциированную вакцину против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции иммунизировали коровам первый раз за 30 дней до отёла в дозе 5,0 мл, второй раз за 15 дней до отёла в дозе 10,0 мл. Полученных от этих коров телят иммунизировали первый раз в возрасте 15-20 дней в дозе 1,0 мл, а второй через 10-15 дней в дозе 2,0 мл. Вакцину вводили подкожно в область верхней трети шеи.

Результаты проведенных испытаний показали, что применение ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза, энтерококковой инфекции при профилактике острых кишечных заболеваний позволил снизить заболеваемость у телят в сравнении с контролем на 64 % и добиться сохранности телят до 100 %, что свидетельствует о высокой профилактической эффективности вакцины. Экономическая эффективность от применения ассоциированной вакцины составила 1,3 руб. на 1 руб. затрат.

Главный зоотехник АО «Приазовское»

А. А. Перепелица

Представители Кубанского ГАУ

А. Г. Кощаев

А. С. Тищенко

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет им. И.Т. Трубилина»,
канд. экон. наук, доцент

А.В. Петух

« 20 » 2024 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

**научно-исследовательской работы кандидата ветеринарных наук,
доцента Тищенко А.С. в учебный процесс университета**

Результаты диссертационной работы докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика» были внедрены в учебно-практический процесс ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» при проведении лабораторно-практических занятий, подготовке студенческих квалификационных научных работ, а также разработке учебно-методических материалов для обучающихся на факультете ветеринарной медицины.

Декан факультета ветеринарной
медицины, канд. ветеринарных наук
доцент



А.Н. Шевченко



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ



«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ)

Зоотехнический пер., д. 12, г. Ставрополь, 355017
тел.: 8(8652) 35-22-82; 35-22-83 факс: 8(8652) 71-58-15.

E-mail: inf@stgau.ru http: www.stgau.ru
ОКПО 00493221, ОГРН 1022601993468, ИНН 2634003069

26.06.2024 № 15-20/28-3707
на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и
стратегическому развитию
ФГБОУ ВО «Ставропольский
государственный аграрный
университет»,

д-р экономических наук,
профессор

А. Н. Бобрышев

«26» августа 2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей в институте ветеринарии и биотехнологии.

Директор института ветеринарии и
биотехнологии, д-р биол. наук, профессор

В. С. Скрипкин

УТВЕРЖДАЮ

Проректор

по учебной и научной работе

ФГБОУ ВО Чувашский ГАУ,

кандидат экономических наук, доцент

Л. М. Иванова

«29» августа 2024 г.



КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, приняты к внедрению в учебный процесс Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный аграрный университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на факультете ветеринарной медицины и зоотехнии.

Декан факультета

ветеринарной медицины и зоотехнии,

кандидат сельскохозяйственных наук,

доцент

Г.М. Тобоев

УТВЕРЖДАЮ



Проректор по научно-исследовательской
работе ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ,
д-р биол. наук, профессор


«19» августа 2024 г. А.А. Ряднов

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ. Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки выпускных квалификационных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантами и соискателями на факультете биотехнологий и ветеринарной медицины.

Декан факультета биотехнологий и
ветеринарной медицины,
д-р биол. наук, доцент

Д.А. Ранделин



Подпись(и)	
Заверяю начальник Управления кадровой политики и делопроизводства	
	Е.Ю. Коротич
	19.08.2024

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и
инновациям ФГБОУ ВО «Уральский
государственный аграрный университет»,
канд. с.-х. наук, доцент

М. Ю. Карпухин

« » 2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на факультете ветеринарной медицины и экспертизы.

Декан факультета ветеринарной
медицины и экспертизы,
канд. биол. наук, доцент

А. А. Зуев

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ)
460014, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18
тел./ факс (3532) 77-52-30
e-mail: rector@orensau.ru; <http://www.orensau.ru>
ОКПО 00493422, ОГРН 1025601020521
ИНН/КПП 5610042441 / 561001001

от _____ № _____
на _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Ректор

ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ



А.А. Гоячаров

2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный аграрный университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на факультете ветеринарной медицины.

Декан факультета ветеринарной медицины,
д-р биол. наук, доцент

А.А. Торшков

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной
и инновационной деятельности

ФГБОУ ВО «Башкирский
государственный аграрный университет»,
д-р биол. наук, доцент



И. В. Чудов

2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на факультете биотехнологии и ветеринарной медицины.

Декан факультета биотехнологий и
ветеринарной медицины,
д-р ветеринар. наук, доцент

Г. В. Базекин

Подпись Базекин Г.В.
ЗАВЕРЯЕТ
Заведующий канцелярией
«10» 10 20 20 г.
ИНН 0278011005



УТВЕРЖДАЮ



Ректор ФГБОУ ВО Нижегородский ГАТУ
д-р экон. наук, профессор

И. Л. Воротников

«21» августа 2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородский государственный агротехнологический университет». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на ветеринарном факультете.

Декан ветеринарного факультета,
кандидат ветеринарных наук, доцент

Е.В. Медова

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной и
методической работе
ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья,
канд. техн. наук, доцент

 В. В. Бердышев
« » 2024 г.

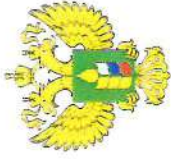
КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Результаты научных исследований докторанта кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики, кандидата ветеринарных наук Тищенко Александра Сергеевича на тему: «Этиологические и патогенетические аспекты эшерихиоза телят и поросят и его вакцинопрофилактика», выполненной по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей в институте биотехнологии и ветеринарной медицины.

Директор института биотехнологии и
ветеринарной медицины,
д-р с.-х. наук, доцент



 А. А. Бахарев



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СВИДЕТЕЛЬСТВО К ЗОЛОТОЙ МЕДАЛИ



В номинации: «За достижения в области инноваций АПК»

**ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина»**

*Иммунобиологический препарат на основе инактивированных
токсигенов кишечной палочки, бактериального липополисахарида и
полиакриловой кислоты*

МИНИСТР СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А. Н. ПАТРУШЕВ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2023





Министерство
сельского хозяйства
Российской Федерации

ЗОЛОТАЯ ОСЕНЬ 2023

XXV РОССИЙСКАЯ АГРОПРОМЫШЛЕННАЯ ВЫСТАВКА

ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ
СЕРЕБРЯНОЙ МЕДАЛЬЮ

ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ,
г. Краснодар

За разработку отечественного иммунобиологического препарата

МИНИСТР СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Д.Н. ПАТРУШЕВ

**XXVII Московский международный
Салон изобретений и инновационных технологий**



«АРХИМЕД 2024»

ДИПЛОМ

**Решением Международного Жюри
награждается**

ЗОЛОТОЙ МЕДАЛЬЮ

**Кубанский государственный аграрный университет
имени И.Т. Трубилина
авторы: Тищенко Александр Сергеевич,
Терехов Владимир Иванович, Коцаев Андрей Георгиевич,
Алферов Дмитрий Олегович
за проект: «Иммунобиологический препарат на основе
инактивированных экзотоксинов кишечной палочки и
минерально-масляного адъюванта»**

**Председатель
Международного Жюри,
академик,
вице-президент РАН**

С.М. Алдошин

Президент Салона

Д.И. Зезюлин

**Руководитель
Федеральной службы
по интеллектуальной
собственности**

Ю.С. Зубов

Россия, Москва, 19.03 - 21.03.2024 г.



Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
Протокол № 3 от 18 марта 2024 года
Зам. председатель, канд. эконом. наук

А. В. Петух

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРИМЕНЕНИЮ
КОЛИАНАТОКСИНА С МИНЕРАЛЬНО-МАСЛЯНЫМ АДЬЮВАНТОМ
(КОЛИАНАТОКСИН-ГОО+МА)
(в порядке производственных испытаний)**

Изготовлено: ООО НПВП "Ветфарм", Краснодарский край, город Тимашевск,
ул. Дзержинского, д.17

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Колианатоксин-ГОО+МА – иммунобиологический препарат, представляющий собой инактивированные формалином экзотоксины токсигенных штаммов *Escherichia coli*, адсорбированные на гидрате окиси алюминия и масляном адыуванте.

1.2 Лекарственная форма суспензия для инъекций, содержащая в своем составе 2%-ную суспензию $Al(OH)_3$ (ГОО) и масляный адыувант (МА), состоящий из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1 – диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло "М" по ТУ 381011224 – 98,5% и бесклеточную культуральную среду, содержащую инактивированные экзотоксины *Escherichia coli* – остальное.

1.3 По внешнему виду готовый препарат представляет собой прозрачную опалесцирующую жидкость соломенного цвета с выпадающим беловато-сероватым осадком на дне, который при встряхивании флакона легко разбивается, образуя равномерную взвесь.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Выпускают во флаконах по 100 см³, 200 см³. Флаконы герметично укупорены резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками. Упакованы в картонные коробки по 10 шт.

2.2 Каждую коробку маркируют с указанием адреса производителя, назначения и способа применения, номера партии, даты изготовления, срока и условий хранения, массы нетто, надписи: «Для ветеринарного применения». Прилагается инструкция на русском языке.

2.3 Хранить в закрытой упаковке при температуре не выше 4-10 °С.

2.4 Срок годности при условиях соответствующего хранения не более 1 года. Не использовать по истечении срока годности.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Колианатоксин-ГОВА+МА вызывает формирование иммунитета у сельскохозяйственных животных к эшерихиозу через 7 суток после повторного введения продолжительностью до 3 месяцев у взрослых животных и 3 месяцев у молодняка. Колостральный иммунитет у новорожденных, полученных от вакцинированных животных, сохраняется до 7 дней – у телят и 21 дня – у поросят.

Колианатоксин-ГОВА+МА безвреден, лечебным действием не обладает.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Колианатоксин-ГОВА+МА предназначен для профилактики эшерихиоза телят и поросят в хозяйствах, неблагополучных по данной болезни.

4.2 Запрещается вакцинировать животных клинически больных, с повышенной температурой тела, ослабленных, истощенных.

4.3 Иммунизации подлежат стельные коровы первый раз за 45, а второй раз за 15 дней до отела, супоросные свиноматки первый раз за 40 дней, а второй раз за 15 дней до опороса, поросята не позже 21 дня после рождения с ревакцинацией через 7 дней.

4.4 Колианатоксин-ГОВА+МА вводят коровам подкожно в область верхней трети шеи, свиноматкам внутримышечно в область основания ушной раковины, поросятам внутримышечно с внутренней стороны бедра, двукратно в следующих дозах:

Показатель	Дозы препаратов, см ³	
	Первично	Повторно
Коровы	5	10
Свиноматки	5	5
Поросята не позже 21 дня после рождения	0,25	0,5

4.5 При использовании Колианатоксина-ГОВА+МА в рекомендуемых дозировках не отмечено побочных эффектов и осложнений.

4.6 После использования Колианатоксина-ГОВА+МА получаемую продукцию можно применять без ограничений.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При использовании Колианатоксина-ГОВА+МА следует соблюдать правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с ветеринарными препаратами.

Инструкция разработана: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»; 350044, Россия, г. Краснодар, ул. Калинина, д. 13, главный учебный; тел. +7 (861) 221-56-37



Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
Протокол № 3 от 18 марта 2024 года
Зам. председатель, канд. эконом. наук

А. В. Петух

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРИМЕНЕНИЮ
КОЛИАНАТОКСИНА С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ И
ПОЛИАКРИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ
В КАЧЕСТВЕ АДЬЮВАНТОВ (КОЛИАНАТОКСИН–ЛПС+ПАК)
(в порядке производственных испытаний)**

Изготовлено: ООО НПВП "Ветфарм", Краснодарский край, город Тимашевск,
ул. Дзержинского, д.17

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Колианатоксин–ЛПС+ПАК – иммунобиологический препарат, представляющий собой инаktivированные формалином экзотоксины токсигенных штаммов *Escherichia coli*, адсорбированные на бактериальных липополисахаридах, выделенных из микробных клеток *Salmonella typhi* (пирогенал), и полиакриловой кислоты с молекулярной массой 9000 кДа.

1.2 Лекарственная форма суспензия для инъекций, содержащая в своем составе пирогенал в 0,01 % концентрации, 3 %-й водный раствор полиакриловой кислоты и бесклеточную культуральную среду, содержащую инаktivированные экзотоксины *Escherichia coli* – остальное.

1.3 По внешнему виду готовый препарат представляет собой прозрачную жидкость светло-соломенного цвета без осадка и посторонних примесей.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Выпускают во флаконах по 100 см³, 200 см³. Флаконы герметично укупорены резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками. Упакованы в картонные коробки по 10 шт.

2.2 Каждую коробку маркируют с указанием адреса производителя, назначения и способа применения, номера партии, даты изготовления, срока и условий хранения, массы нетто, надписи: «Для ветеринарного применения». Прилагается инструкция на русском языке.

2.3 Хранить в закрытой упаковке при температуре не выше 4-10 °С.

2.4 Срок годности при условиях соответствующего хранения не более 1 года. Не использовать по истечении срока годности.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Колианатоксин–ЛПС+ПАК вызывает формирование иммунитета у сельскохозяйственных животных к эшерихиозу через 7 суток после повторного введения продолжительностью до 2 месяцев у взрослых животных и 2 месяцев у молодняка. Колостральный иммунитет у новорожденных, полученных от вакцинированных животных, сохраняется до 7 дней – у телят и 14 дней – у поросят.

Колианатоксин–ЛПС+ПАК безвреден, лечебным действием не обладает.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Колианатоксин–ЛПС+ПАК предназначен для профилактики эшерихиоза телят и поросят в хозяйствах, неблагополучных по данной болезни.

4.2 Запрещается вакцинировать животных клинически больных, с повышенной температурой тела, ослабленных, истощенных.

4.3 Вакцинации подлежат: беременные коровы и свиноматки за 1 месяц до родов, поросята не позже 14 дней после рождения.

4.4 Колианатоксин–ЛПС+ПАК вводят коровам подкожно в область верхней трети шеи, свиноматкам внутримышечно в область основания ушной раковины, поросятам внутримышечно с внутренней стороны бедра, двукратно с интервалом 7-10 дней в следующих дозах:

Показатель	Дозы препаратов, см ³	
	Первично	Повторно
Коровы	5	10
Свиноматки	5	5
Поросята не позже 14 дней после рождения	0,25	0,5

4.5 При использовании Колианатоксина–ЛПС+ПАК в рекомендуемых дозировках не отмечено побочных эффектов и осложнений.

4.6 После использования Колианатоксина–ЛПС+ПАК получаемую продукцию можно применять без ограничений.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При использовании Колианатоксина–ЛПС+ПАК следует соблюдать правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с ветеринарными препаратами.

Инструкция разработана: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»; 350044, Россия, г. Краснодар, ул. Калинина, д. 13, главный учебный; тел. +7 (861) 221-56-37



Рассмотрено и одобрено Ученым советом
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
Протокол № 3 от 18 марта 2024 года
Зам. председатель, канд. экон. наук

А. В. Петух

ИНСТРУКЦИЯ ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ ПРИМЕНЕНИЮ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЭШЕРИХИОЗА, СТРЕТОКОККОЗА И ЭНТЕРОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ

(в порядке производственных испытаний)

Изготовлено: ООО НПВП "Ветфарм", Краснодарский край, город Тимашевск,
ул. Дзержинского, д.17

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Ассоциированная вакцина против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят – иммунобиологический препарат, представляющий собой инаktivированные формалином штаммы *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis* и экзотоксины токсигенных штаммов *Escherichia coli*.

1.2 Лекарственная форма суспензия для инъекций, содержащая в своем составе культуральные среды, содержащие клетки гемолитических штаммов *Streptococcus bovis* и *Enterococcus faecalis* и бесклеточную культуральную среду, содержащую инаktivированные экзотоксины *Escherichia coli*.

1.3 По внешнему виду готовая вакцина представляет собой жидкость светло-коричневого цвета с рыхлым беловато-серым осадком, который при встряхивании легко разбивается в гомогенную взвесь.

2. ФАСОВКА И МАРКИРОВКА

2.1 Выпускают во флаконах по 100 см³, 200 см³. Флаконы герметично укупорены резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками. Упакованы в картонные коробки по 10 шт.

2.2 Каждую коробку маркируют с указанием адреса производителя, назначения и способа применения, номера партии, даты изготовления, срока и условий хранения, массы нетто, надписи: «Для ветеринарного применения». Прилагается инструкция на русском языке.

2.3 Хранить в закрытой упаковке при температуре не выше 4-10 °С.

2.4 Срок годности при условиях соответствующего хранения не более 1 года. Не использовать по истечении срока годности.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

3.1 Ассоциированная вакцина вызывает формирование иммунитета у телят и поросят к эшерихиозу, стрептококкозу и энтерококковой инфекции через 10-15 дней после повторного введения продолжительностью до 3 месяцев у взрослых животных и

3 месяцев у молодняка. Колостральный иммунитет у новорожденных, полученных от вакцинированных животных, сохраняется до 20 дней.

Ассоциированная вакцина против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят безвредна, лечебным действием не обладает.

4. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Ассоциированная вакцина предназначена для профилактики эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции у телят и поросят в хозяйствах, неблагополучных по данным болезням, протекающих как в виде моноинфекций, так и в виде ассоциированных инфекций.

4.2 Запрещается вакцинировать животных клинически больных, с повышенной температурой тела, ослабленных, истощенных.

4.3 Иммунизации подлежат свиноматки первый раз за 30 дней до опороса, второй раз – за 20 дней. Полученные от этих свиноматок поросята подлежат иммунизации дважды первый раз в возрасте 15-17 дней, а второй в возрасте 28-30 дней.

4.4 Коровы подлежат иммунизации первый раз за 30 дней до отёла, второй раз за 15 дней до отёла. Полученные от этих коров телят подлежат иммунизации первый раз в возрасте 15-20 дней, а второй через 10-15 дней.

4.5 Ассоциированную вакцину против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят вводят коровам и телятам подкожно в область верхней трети шеи, свиноматкам внутримышечно в область основания ушной раковины, поросятам внутримышечно с внутренней стороны бедра, двукратно в следующих дозах:

Показатель	Дозы препаратов, см ³	
	Первично	Повторно
Коровы	5,0	10,0
Телята	1,0	2,0
Свиноматки	5,0	5,0
Поросята не позже 21 дня после рождения	0,25	0,5

4.5 При использовании ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят в рекомендуемых дозировках не отмечено побочных эффектов и осложнений.

4.6 После использования ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят получаемую продукцию можно применять без ограничений.

5. МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

5.1 При использовании ассоциированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции телят и поросят следует соблюдать правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с ветеринарными препаратами.

Инструкция разработана: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»; 350044, Россия, г. Краснодар, ул. Калинина, д. 13, главный учебный; тел. +7 (861) 221-56-37

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет имени И. Т. Трубилина»

ФГБНУ «Северо-Кавказский научно-исследовательский
ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный
Ростовский аграрный научный центр»

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОЛИАНАТОКСИНА И АДЪЮВАНТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

Методические рекомендации

Краснодар
КубГАУ
2024

Составители: А. Г. Кощаев, А. С. Тищенко, В. В. Чекрышева,
В. И. Терехов, А. С. Кривоногова, В. М. Гугушвили, И. А. Шку-
ратова, А. И. Клименко

**Разработка и применение иммунобиологических препаратов
на основе колианатоксина и адъювантных композиций : ме-
тод. рекомендации / сост. А. Г. Кощаев [и др.]. – Краснодар :
КубГАУ, 2024. – 45 с.**

В методических рекомендациях представлены способы разработки
иммунобиологических препаратов на основе инактивированных эзотокси-
нов кишечной палочки и адъювантных композиций, результаты исследо-
вания при применении крупному рогатому скоту и свиньям.

Предназначены для иммунологов, главных специалистов городских и
районных управлений ветеринарии, ветеринарных врачей эпизоотологов,
сотрудников научно-исследовательских лабораторий, занимающихся во-
просами иммунопрофилактики бактериальных инфекций животных, аспи-
рантов по научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и имму-
нология животных.

Рекомендации подготовлены в рамках выполнения тематического
плана НИОКР, утвержденного Ученым советом ФГБОУ ВО Кубанский
ГАУ на 2016–2020 гг. (протокол № 1 от 25.01.2016, номер госрегистрации
темы АААА-16-116021110067-4) и на 2021–2025 гг. (протокол № 10 от
20.12.2020, номеро госрегистрации темы 121032300041-1).

Рассмотрено и одобрено на заседании ученого совета ФГБНУ
«Северо-Кавказский научно-исследовательский ветеринарный
институт – филиал ФГБНУ ФРАНЦ», протокол № 8 от 13 октября
2024 г.

© ФГБОУ ВО «Кубанский
государственный аграрный
университет имени
И. Т. Трубилина», 2024

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
аграрный университет имени И. Т. Трубилина»

ФГБНУ «Северо-Кавказский научно-исследовательский
ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный
Ростовский аграрный научный центр»

ПРОФИЛАКТИКА СМЕШАННЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ И ПОРОСЯТ

Методические рекомендации

Краснодар
КубГАУ
2024

Составители: А. С. Тищенко, А. Г. Коцаев, В. В. Чекрышева,
В. И. Терехов, А. В. Лихоман, А. Г. Исаева, А. М. Гулюкин,
И. М. Донник

Профилактика смешанных острых кишечных инфекций телят и поросят : метод. рекомендации / сост. А. С. Тищенко [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2024. – 35 с.

В методических рекомендациях представлены способ разработки ас-социированной вакцины против эшерихиоза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции, результаты исследования ее применения крупному рогатому скоту и свиньям.

Предназначены для иммунологов, главных специалистов городских и районных управлений ветеринарии, ветеринарных врачей эпизоотологов, сотрудников научно-исследовательских лабораторий, занимающихся вопросами иммунопрофилактики бактериальных инфекций животных, аспирантов по научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Рекомендации подготовлены в рамках выполнения тематического плана НИОКР, утвержденного Ученым советом ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ на 2016–2020 гг. (протокол № 1 от 25.01.2016, номер госрегистрации темы АААА-16-116021110067-4) и на 2021–2025 гг. (протокол № 10 от 20.12.2020, номер госрегистрации темы 121032300041-1).

Рассмотрено и одобрено на заседании Ученого совета ФГБНУ «Северо-Кавказский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ ФРАНЦ», протокол № 8 от 13 августа 2024 г.

© ФГБОУ ВО «Кубанский
государственный аграрный
университет имени
И. Т. Трубилина», 2024