

Для оцінки впливу дії вакцин на фізіологічний стан птиці нами також була проаналізована динаміка зміни вмісту лізоциму (рис. 4). Було встановлено, що введення ВІБ не тільки не пригнічує, але й сприяє активізації напрацювання лізоциму на 14-ту добу після 1-го та 2-го введення препарату на 9,5 та 17 % відповідно. На 21-у добу після 2-го введення рівень його в сироватці крові дещо знижується, але все одно перевищує аналог у контрольній групі в середньому на 12 %. Динаміка підвищення лізоциму в групі ВБД схожа, але значення цього показника нижчі. Так, на 14-ту добу після 1-го та 2-го введення препарату він перевищує аналог для контрольної групи на 3,5 % та 13,5 %. На 21-шу добу після 2-го введення рівень лізоциму на 10 % вище ніж в контрольній групі.

Аналіз результатів біохімічних показників крові курей дослідних та контрольних груп показав, що дворазове внутрішньом'язове введення ВІБ та ВБД не чинить негативного впливу на стан імунної системи птиці. Так, рівень серомукоїдів у сироватці крові птиці незначно зростає на 7-му добу після 1-ого та 2-го введення препаратів, але вже на 21-у добу він знижується і практично сягає фізіологічної норми. Рівень лізоциму стабільно зростає і на 21-шу добу після 2-го введення та перевищував аналог для контрольної групи на 12 % та 10 % в обох дослідних групах. Це свідчить, що введення препаратів активізувало обмін речовин та підвищувало рівень загальної резистентності організму птиці. На активізацію функціонування органів імунної системи вказувало і підвищення рівня ЦІК на 14-ту добу після 2-ого введення вакцини. В обох групах він сягав найвищого значення та перевищував аналог для контрольної групи на 19 % та 15 % відповідно. Позитивна динаміка зміни рівня загального білка також підтверджувала факт активізації імунної системи. На 14-ту добу після 2-го введення ВІБ та ВБД цей показник перевищував аналог для контрольної групи на 22 % та 19 % відповідно.

Висновки. 1. Дворазове внутрішньом'язове введення інактивованих вакцин проти респіраторного мікоплазмозу птиці не чинить негативного впливу на фізіологічний стан організму та активізує роботу імунної системи птиці. Однак, за результатами аналізу біохімічних показників сироватки крові курей більш доцільним є застосування ВІБ.

2. Застосування вакцини на основі інактивованого бактерину (ВІБ) підвищує рівень загального білка на 22 %, циркулюючих імунних комплексів – на 19 %, лізоциму – на 12 % та сприяє незначному підвищенню рівня серомукоїдів (на 6 %), який на 21-шу добу після 2-го введення вакцини знижується та сягає фізіологічної норми.

3. Застосування вакцини на основі дезінтегрованої бакмаси (ВДБ) підвищує рівень загального білка на 19 %, циркулюючих імунних комплексів – на 15 %, лізоциму – на 10 % та сприяє незначному підвищенню рівня серомукоїдів (на 7 %), який на 21-шу добу після 2-го введення вакцини знижується.

Перспективи подальших досліджень. З метою подальшого вивчення дії на організм птиці інактивованих вакцин проти респіраторного мікоплазмозу птиці буде проаналізована динаміка морфофункціональних змін імунокомпетентних органів курей дослідних груп.

Список літератури

1. Обуховська, О.В. Вивчення протективних властивостей експериментальних серій інактивованих вакцин проти респіраторного мікоплазмозу птиці [Текст] / О.В. Обуховська // Пробл. зооінженерії та вет. медицини : зб. наук. пр. / ХДЗВА. – Х., 2012. – Вип. 25, Ч. 2. – С. 206–209.
2. Anon, A. Sintesi relazione Volten [Text] / A. Anon // Unavicoltura. – 1987. – Vol. 23, № 9. – P. 18–20.
3. Barbur, E.K. Infection and immunity in broiler chicken breeders vaccinated with a temperature-sensitive mutant of *Mycoplasma gallisepticum* and impact on performance of offspring [Text] / E.K. Barbur, S.K. Hamadeh, A. Eid // Poultry Sc. – 2000. – Vol. 79, № 12. – P. 1730–1735.
4. Effects of an S6 strain of *Mycoplasma gallisepticum* challenge before beginning of lay on various egg characteristics in commercial layers [Text] / T.A. Parker [et al.] // Avian Dis. – 2002. – Vol. 46, № 3. – P. 593–597.
5. Jutta, B.U. *Mycoplasma* eradication by egg injection [Text] / B.U. Jutta // Poultry. – 1985. – Vol. 24, № 13. – P. 28–30.
6. Preliminary study of the adjuvant emulsion Montanide ISA-50 and *Mycoplasma gallisepticum* antigen [Text] / L. Sanchez [et al.] // Rev. Salud anim. – 2004. – Vol. 26, № 3. – P. 213–215.
7. Prove di vaccinazione in campo contro le infezioni aviarie da *Mycoplasma gallisepticum* [Text] / D. Gallazzi [et al.] // Clin. veter. – 1985. – Vol. 108, № 2. – P. 115–121.
8. Rozina, A. Evaluation of efficacy of formaldehyde treated *Mycoplasma gallisepticum* vaccine in broiler chicken [Text] / A. Rozina, M.A. Khan // Pakistan J. Sci. Res. – 2002. – Vol. 45, № 4. – P. 284–290.
9. Shapiro, D. Inactivated vaccines theory and practice [Text] / D. Shapiro // Poultry. – 1985. – Vol. 1, № 5. – P. 36–39.
10. Uribe Serrano, A.J. Use of vaccines to control *Mycoplasma gallisepticum* [Text] / A.J. Uribe Serrano // International Hatchery Practice. – 2001. – Vol. 16, № 2. – P. 15–17.

THE STUDY EFFECT OF INACTIVATED VACCINES AGAINST AVIAN MYCOPLASMOSIS ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF PHYSIOLOGICAL STATUS OF CHICKENS

Obuhovska O.V., Glebova K.V., Matusha L.V., Rudenko O.P.

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

The effect of inactivated vaccines against Avian Mycoplasmosis on biochemical parameters of physiological status of organism was studied in chicken. It is shown that a double intramuscular immunization with inactivated vaccines have no negative effect on the body and activates the immune system of birds. However, the results of serum biochemical analysis showed that the use of the vaccine based on inactivated bacterin was more effective.

УДК 57.083.132

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Павленко И.В., Самуйленко А.Я., Бобровская И.В., Неминущая Л.А., Еремец Н.К., Нежута А.А.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, г. Щелково, Российская Федерация

Салеева И.П.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАСХН, г. Сергиев-Посад, Российская Федерация

Технология изготовления сухих живых бактериальных препаратов - многоцелевая проблема, одной из ключевых направлений которой является разработка современных процессов стабилизации, позволяющая получить эффективные биопрепараты. Сублимационное высушивание, являющееся завершающим этапом технологического процесса получения целевого продукта - один из самых распространенных технологических приемов, используемых в биотехнологической промышленности [1].

Особое значение для ветеринарной практики имеет высушивание живых микробных вакцин, позволяющее длительно сохранять иммуногенные свойства этих препаратов. Совершенствованием оборудования и оптимизацией технологических режимов сублимационного высушивания нельзя добиться полного успеха без оптимизации состава питательных сред, условий культивирования, состава защитных сред и т.п. [2]. В этой связи всесторонний подход к оптимизации условий сохранения жизнеспособности микроорганизмов, используемых для получения симбиотических препаратов весьма актуален.

Целью работы явилось обеспечение высокой степени сохранения жизнеспособности бактерий *Escherichia coli*, штамм VL-613, в экспериментальном симбиотическом препарате. В связи с этим была проведена оптимизация состава защитной среды высушивания штамма *E. coli*, штамм VL-613.

Известны различные защитные среды для сохранения максимального количества живых бактерий рода *Escherichia* после лиофильного высушивания.

Методы и результаты исследований. На начальном этапе разработки защитной среды *E. coli* были выбраны семь сред: на основе сыворотки крови КРС; на основе Декстрана; 3 варианта сред на основе обезжиренного молока и 2 варианта на основе сахарозо-желатиновой среды (СЖС).

Предварительные исследования по разработке защитной среды для эшерихий проводили на культуре, полученной во флаконах с перемешиванием на шуттель-аппарате, для концентрирования бактериальной культуры использовали лабораторные центрифуги К-70 Д и S-60.

Результаты исследований были переведены в относительные единицы для того, чтобы достоверность выводов не зависела от начальной концентрации эшерихий после сублимационной сушки. За относительную единицу была выбрана концентрация живых микроорганизмов при длительном хранении относительно концентрации эшерихий после сушки, принятой за 100 %, по месяцам хранения.

В таблице 1 представлены результаты экспериментов, отражающие зависимость жизнеспособности бактерий *E. coli*, штамм VL-613, от состава защитной среды, режимов высушивания и продолжительности хранения.

Таблица 1 – Зависимость жизнеспособности бактерий *E. coli*, штамм VL-613 от состава защитной среды, режимов высушивания и длительности хранения.

Порядковый номер защитной среды	Количество живых м.к. до сушки, млрд./см ³	Количество живых м.к. после сушки, млрд./см ³ / %	Количество живых м.к. млрд./см ³ / %, при хранении в течении, месяцев		
			1,0	2,0	4,0
1	12,9	0,3 / 100	0,23 / 76,7	0,03 / 13,0	0 / 0
2	38,3	6,7 / 100	6,1 / 91,0	5,9 / 88,1	5,2 / 77,6
3	21,0	0,2 / 100	0,15 / 75,0	0,06 / 3,0	0 / 0
4	24,2	9,9 / 100	6,7 / 67,7	4,2 / 42,4	3,1 / 31,3
5	17,8	0,06 / 100	0,01 / 16,7	0 / 0	0 / 0
6	33,0	9,9 / 100	6,8 / 68,7	5,7 / 57,6	4,6 / 46,5
7	29,0	15,7 / 100	10,9 / 69,4	10,2 / 65,0	9,5 / 60,5

Из представленных в таблице 1 результатов следует, что лучшими защитными свойствами для эшерихий обладает среда № 7 (на основе СЖС), оптимальное соотношение компонентов в которой определяли с использованием плана полного факторного эксперимента (ПФЭ) типа 2⁴.

Критерием оптимизации «У_i» выбрано изменение концентрации живых микроорганизмов при длительном хранении относительно концентрации эшерихий после сушки, принятой за 100 %, где i – месяц хранения.

В качестве факторов выбраны: X₁ – концентрация желатина; X₂ – концентрация сахарозы; X₃ – концентрация декстрана; X₄ – вода или калий-фосфатный буфер (КФБ).

После реализации экспериментов по плану ПФЭ и статистической обработке данных, получили уравнение регрессии (1), показывающее зависимость сохраняемости жизнеспособных эшерихий от концентрации основных компонентов защитной среды в процессе сушки.

$$Y=84,41+1,72X_1 +1,91X_2-2,22X_3+1,24X_4+1,58X_2X_4+2,46X_1X_2X_4-1,49X_1X_2X_3+1,83X_1X_2X_3X_4 \quad (1)$$

По формулам рассчитывали построчные оценки дисперсии, дисперсию воспроизводимости единичного результата, дисперсию воспроизводимости среднего результата в каждой строке, дисперсию среднего для каждого коэффициента регрессии и доверительную ошибку коэффициентов. Коэффициенты уравнения регрессии рассчитывали по формулам.

Если $|b_i| > \varepsilon(b_i)$, то оценка коэффициента b_i значимо отличалась от нуля. В противном случае оценку коэффициента считали значимо не отличающейся от нуля, и ее приравнивали к нулю. Показано, что уравнение (1) адекватно описывает экспериментальные данные ($F_{рас.} = 1,98 < F_{теор.} = 2,18$, q=0,9).

Затем состав защитной среды оптимизировали по результатам длительного хранения при реализации плана ПФЭ 2⁴. Количество жизнеспособных (ж/с) эшерихий в процессе длительного хранения определили через 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения и рассчитывали уравнения регрессии для каждого месяца хранения, соответственно. В таблице 2 представлены данные экспериментов по плану ПФЭ 2⁴.

После реализации экспериментов по плану ПФЭ и статистической обработке данных получили уравнения регрессии (2–6), показывающие зависимость сохраняемости эшерихий от концентрации основных компонентов защитной среды после 1, 3, 6, 9, 12 месяцев хранения.

По формулам рассчитывали для указанных сроков хранения построчные оценки дисперсии, дисперсию воспроизводимости единичного результата, дисперсию воспроизводимости среднего результата в каждой строке, дисперсию среднего для каждого коэффициента регрессии и доверительную ошибку коэффициентов. Удаляли незначимые коэффициенты уравнений.

Таблица 2 – Сохраняемость жизнеспособных эшерихий на составах защитных сред, согласно плану ПФЭ 2⁴ (с 1 по 12 месяцев хранения)

№ п/п	Уср., млрд/см ³ . (принимается за 100 %)	Жизнеспособность эшерихий по месяцам хранения				
		Уср ₁ , млрд/ см ³	Уср ₃ , млрд/ см ³	Уср ₆ , млрд/ см ³	Уср ₉ , млрд/ см ³	Уср ₁₂ , млрд/ см ³
1	8,50	7,50	7,00	5,67	5,17	4,83
2	7,50	6,17	5,50	5,00	4,83	4,83
3	9,00	7,33	6,50	6,17	6,00	5,83
4	7,00	6,00	5,50	5,45	5,33	5,17
5	6,00	4,00	3,00	2,50	2,33	2,00
6	6,67	6,00	4,83	4,50	4,00	3,83
7	7,83	7,00	6,17	6,17	6,00	5,83
8	8,17	7,17	5,83	5,33	5,17	5,00
9	7,67	5,17	4,33	4,00	3,83	3,17
10	7,17	5,33	3,83	3,33	3,00	2,83
11	8,00	6,67	6,17	6,00	5,83	5,50
12	12,00	11,50	10,83	10,50	10,00	9,33
13	7,50	6,83	6,00	5,17	4,83	4,83
14	5,50	3,83	3,33	3,17	2,83	2,67
15	8,17	6,67	6,50	5,67	5,67	5,50
16	9,17	8,17	7,83	7,50	7,42	7,33

Уравнения регрессий принимали вид:

$$Y_1 = 82,74 + 4,03X_1 + 1,59X_2 + 1,88X_3 + 7,41X_4 + 3,07X_1X_2 - 3,21X_1X_3 + 3,66X_1X_4 \quad (2)$$

$$Y_3 = 77,03 + 2,13X_1 + 2,47X_2 + 4,06X_3 + 4,64X_4 - 4,43X_1X_3 + 8,29X_1X_4 - 4,17X_2X_3 - 8,51X_1X_3X_4 + 1,48X_1X_2X_3X_4 \quad (3)$$

$$Y_6 = 66,98 + 8,53X_1 + 1,85X_2 + 2,54X_3 + 2,69X_4 - 2,69X_1X_2X_3 + 4,49X_1X_2X_4 - 3,81X_1X_3X_4 + 3,39X_1X_2X_3X_4 \quad (4)$$

$$Y_9 = 63,82 + 9,83X_1 + 1,36X_2 + 2,50X_3 + 2,94X_4 - 2,15X_1X_2X_3 + 4,48X_1X_2X_4 - 3,35X_1X_3X_4 + 2,89X_1X_2X_3X_4 \quad (5)$$

$$Y_{12} = 60,87 + 10,14X_1 + 1,96X_2 + 2,37X_3 + 4,14X_4 + 4,71X_1X_2X_3 - 3,68X_1X_3X_4 + 3,54X_1X_2X_3X_4 \quad (6)$$

Показано, что уравнения (2–6) адекватно описывают экспериментальные данные ($F_{рас.} = 1,58; 2,12; 1,21; 1,08; 2,04 < F_{теор.} = 2,15, q=0,9$).

Это значит, что в указанных интервалах варьирования выживаемость эшерихий при хранении зависит от концентрации основных компонентов защитных сред в течение каждого месяца хранения: X_1 – концентрация желатина; X_2 – концентрация сахарозы; X_3 – концентрация декстрана; X_4 – КФБ. Причем, выживаемость эшерихий повышается при увеличении концентрации желатина, концентрации декстрана и сахарозы, и при использовании в качестве растворителя КФБ вместо воды, так как X_1, X_2, X_3 и X_4 в уравнениях (2–6) имеют положительные коэффициенты.

В уравнениях (2–6) значимыми являются эффекты межфакторного взаимодействия. Это означает, что опыты ПФЭ были поставлены в области факторного пространства с высокой кривизной поверхности отклика, т. е. вблизи оптимума.

Наилучшей защитной средой высушивания является среда, включающая желатин, сахарозу и калий фосфатный буфер в качестве растворителя в оптимальном соотношении.

Выводы. Разработанная защитная среда высушивания по сравнению с традиционной позволяет увеличить сохраняемость жизнеспособных микроорганизмов при длительном хранении (12 месяцев) на 20–40 %.

Изготовленные опытно-промышленные партии экспериментального симбиотического препарата прошли успешные испытания, с положительным результатом, в птицеводческих и животноводческих хозяйствах [3].

Список литературы

1. К вопросу о стандартизации разработки технологии сублимационного высушивания биопрепаратов. (Первое сообщение) [Текст] / А.Я. Самуйленко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Владимир, 2003. – С. 379–383. 2. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов [Текст] / А.А. Нежута [и др.]. – Курск : Изд-во Курской гос. с.-х. акад., 2002. – 240 с. 3. Применение лизина в бройлерном птицеводстве [Текст] / И. Павленко [и др.] // Птицеводство. – 2012. – № 6. – С. 19–22.

OPTIMISATION OF STRUCTURE OF THE PROTECTIVE ENVIRONMENT FOR SYMBIOTIC PREPARATIONS

Pavlenko I.V., Samujlenko A.J., Bobrovskay I.V., Neminushchaja L.A., Eremets N.K., Nejuta A.A.

All-Russia research and an institute of technology of the biological industry of Russian Academy of Agrarian Sciences, Shchelkovo, Russia

Saleeva I.P.

All-Russia research and an institute of technology of poultry farming of Russian Academy of Agrarian Sciences, Sergiev Posad, Russia

Were optimized the conditions for preserving the viability of the strain Escherichia coli VL-613 in experimental symbiotic preparation. The technology of production of experimental symbiotic, producing lysine in animals.