

Кровь для исследования брали из локтевой вены с 4%-ым раствором цитрата натрия (соотношение 9:1). Эритроциты осаждали центрифугированием при 800g в течение 10 мин. Плазму и лейкоциты удаляли. Эритроциты четырежды промывали 5-кратным объемом 0,15 М NaCl с 10мМ трис-HCl (pH 7,4).

Отмытые эритроциты гемолизировали. Для этого пробы эритроцитов по 0,3 мл помещали в пробирки с 10 мл 5 мМ трис-HCl (pH 7,4) и с 1 мМ ЭДТА. Через 30 мин гемолизат центрифугировали при 16000g в течение 10 мин (Макаренко, 1987). Активность АлДГ определяли в теньях эритроцитов и супернатанте по Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной (1981). Все процедуры производили при температуре 0-4°C.

Солюбилизацию эритроцитарной АлДГ проводили путем суспендирования теней эритроцитов в 0,15 М и 0,3 М растворах KCl. Спустя 20 минут суспензии центрифугировали 10 мин при 15000g. Об эффективности солюбилизации судили по разнице в активности АлДГ в исходных суспензиях теней, супернатантах и суспензиях теней и супернатантах после солюбилизации. Процедуру солюбилизации фермента с эритроцитарной мембраны повторяли трехкратно.

Полученные результаты свидетельствуют, что часть АлДГ связана с мембраной, часть АлДГ находится в эритроцитах в «свободном» состоянии, не связанном с мембраной. Активность фермента в теньях эритроцитов составила $100,45 \pm 1,54$ нмоль НАДН/мин* мг белка, активность в супернатанте – $88,48 \pm 2,64$ нмоль НАДН/мин*мг белка.

Таким образом, 53,16% АлДГ находится в связанной с мембраной эритроцита форме, 46,84% - в «свободной».

Однократная солюбилизация 0,15 М KCl приводит к снижению активности альдегиддегидрогеназы в теньях и достоверному увеличению активности свободной АлДГ в супернатанте в 2,3 раза. Активность АлДГ в теньях составила $60,73 \pm 2,58$ нмоль НАДН/мин*мг белка, в супернатанте – соответственно $189,53 \pm 7,84$ нмоль НАДН/мин*мг белка.

Однократная солюбилизация 0,3 М раствором KCl вызывает достоверное увеличение активности АлДГ в супернатанте в 5,1 раз (активность $449,98 \pm 27,48$ нмоль НАДН/мин*мг белка), после двукратной солюбилизации – в 2,3 раза (активность $203,48 \pm 12,75$ нмоль НАДН/мин*мг белка), после трехкратной солюбилизации – в 2,4 раза (активность $209,70 \pm 0,99$ нмоль НАДН/мин*мг белка).

Эффект солюбилизации наиболее выражен после однократной солюбилизации при использовании в качестве солюбилизирующего агента 0,3 М раствор KCl. Таким образом, 0,3 М KCl является более сильным солюбилизирующим веществом.

Тот факт, что солюбилизация ни 0,15М KCl, ни 0,3 М KCl не приводит к достоверному

снижению активности альдегиддегидрогеназы в теньях эритроцитов, позволяет предположить, что мембраносвязанная АлДГ прочно соединена с мембраной эритроцитов, возможно, ковалентными связями.

АССОЦИИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ СТРЕПТОКОККОЗА И ЭНТЕРОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ НУТРИЙ

Черных О.Ю.

*ГУ Краснодарского края «Кропоткинская ветеринарная лаборатория»
Кропоткин, Россия*

Самой надежной защитой нутрий от инфекционных болезней является специфическая профилактика. Применение ассоциированных вакцин в звероводстве, включающих несколько антигенов, позволяет снизить стрессовые ситуации у прививаемых животных, уменьшить трудозатраты и создать напряженный иммунитет в сжатые сроки.

Задачей наших исследований было изучить иммунологические свойства ассоциированной вакцины против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий.

В опытах использовали опытные серии ассоциированной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий, изготовленные по разработанной нами технологии.

Безвредность и реактогенность вакцины изучали путем введения 3-5-кратной прививочной дозы нутриям в возрасте 40-50 дней и наблюдения за клиническим состоянием животных в течение 10 дней.

Иммуногенность вакцины проверяли на нутриях в возрасте 40 – 50 дней. Десять нутрий иммунизировали ассоциированной формолвакциной против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий двукратно: первая доза – 1,0 см³, вторая доза – 1,5 см³ с интервалом 10 суток. Контролем служили интактные животные. Через 7, 14, 21, 28 дней после вакцинации у нутрий отбирали кровь для гематологических и серологических исследований. Уровень специфических антител в сыворотке крови определяли по общепринятым методам в реакции преципитации (РП).

При определении факторов неспецифической резистентности использовали тест бактериального фагоцитоза нейтрофилов с учетом степени его завершенности по отношению к бактериям *Staphylococcus aureus* (№209 Р). Количество Т-, В-, НК-лимфоцитов крови определяли по специальным методикам.

В результате проведенных исследований установлено, что после двукратного внутримышечного введения 10 нутриям в область бедра ассоциированной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против стрептококкоза и энтерокок-

ковой инфекции нутрий в дозе: первая 1,0 см³, вторая с интервалом 10 дней – 1,5 см³, отклонений от физиологической нормы не выявлено.

Установлено, что у вакцинированных нутрий в сравнении с контрольными было выше не только количество активно фагоцитирующих НГ на 5-24%, а также поглотительная способность – на 13-52% и процент переваривания – на 7-26% с 1-е по 28-е сутки наблюдения. После первой прививки у иммунизированных нутрий по сравнению с невакцинированными повысилось количество активных фагоцитирующих нейтрофилов на 34,69%, поглотительная способность – на 55,85%, процент переваривания – на 31,39%. После второй прививки все три показателя, характеризующие фагоцитарную реакцию, возросли. В дальнейшем наметилась тенденция к снижению.

Исследование особенностей клеточного звена иммунитета у нутрий показало, что у иммунизированных зверей на 7-21-е сутки после вакцинации количество Т-лимфоцитов достоверно снижалось на 4-12% по сравнению с контрольными животными (до вакцинации). На 28-е сутки наблюдалось повышение их концентрации до исходного уровня. Уровень В-лимфоцитов достоверно повышался с 7 по 28-е сутки наблюдения на 22-37% по отношению к контролю. Содержание НК-лимфоцитов возросло после первой вакцинации – на 9,47% к уровню контрольных животных. В дальнейшем наблюдалась отчетливая тенденция к снижению НК-лимфоцитов.

При изучении гуморального звена иммунитета у нутрий на ассоциированную гидроокисьалюминиевую формолвакцину против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий в серологических реакциях установлено, что после двукратной вакцинации средний уровень антител в сыворотке крови вакцинированных нутрий на 7-14-21 сутки повышался против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий, а затем закономерно снижался.

Заключение

Установлено, что опытные серии ассоциированной вакцины против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий безвредны для нутрий и обладают одновременно антигенностью и иммуногенностью.

О сравнительно ранней иммунобиологической перестройке организма нутрий свидетельствует фагоцитарная реакция нейтрофилов крови.

Выявленные закономерности клеточной реакции фагоцитов полностью соответствуют изменению уровня гуморальных антител к стрептококкозу и энтерококковой инфекции нутрий у иммунизированных зверей и существенно дополняют характеристику иммунного ответа.

Ассоциированная вакцина против стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий после двукратной прививки вызывает перестройку иммунной системы организма нутрий, о чем

свидетельствуют поствакцинальные количественные изменения Т- и В-лимфоцитов.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС НУТРИЙ, ПРИВИТЫХ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, СТРЕПТОКОККОЗА И ЭНТЕРОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Черных О.Ю.

*ГУ Краснодарского края «Кропоткинская ветеринарная лаборатория»
Кропоткин, Россия*

При вакцинации иммунологическая перестройка организма затрагивает многие органы и системы и сопровождается соответствующими изменениями клинических, морфологических и биохимических показателей.

Учитывая данное обстоятельство, нами были изучены показатели морфобиохимического статуса нутрий, привитых ассоциированной вакциной против колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции.

Эксперименты проводили на базе ГУ «Кропоткинская зональная ветеринарная лаборатория». В опытах использовали клинически здоровых щенят 2-3-х месячного возраста стандартной породы нутрий, содержащихся в условиях Краснодарского края и подобранных по принципу параналогов, опытную серию ассоциированной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против колибактериоза, сальмонеллеза, стрептококкоза и энтерококковой инфекции нутрий, изготовленную по разработанной нами технологии. Животных содержали и кормили в соответствии с типовыми нормами.

У нутрий до вакцинации, а также на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки после иммунизации из боковой вены хвоста перед кормлением отбирали кровь. Вакцинацию животных проводили внутримышечно двукратно: первая – 1,0 см³, через 7 суток вторая прививка – 1,5 см³.

За контрольными и опытными животными вели наблюдение в течение эксперимента. Регистрировали общее состояние животных, физиологические параметры организма нутрий.

Оценку гематологических показателей (количество эритроцитов, уровень гемоглобина, количество лейкоцитов, лейкоцитарная формула) проводили по общепринятым методикам.

Общий белок в сыворотке крови нутрий определяли рефрактометрически, содержание белковых фракций – нефелометрическим методом.

Результаты изучения клинических показателей нутрий позволили оценить вакцину как умеренно реактогенную. Общего угнетения нутрий не наблюдали, животные свободно перемещались в клетках, хорошо поедали корм. Частота дыхания находилась в пределах физиологической