

трольной групп с $10,9 \pm 2,08$ lg КОЕ/г до $13,0 \pm 0,01$ lg КОЕ/г при энтеральном применении, а также в тонком кишечнике у цыплят первой опытной и контрольной групп и в толстом кишечнике у цыплят первой, второй и контрольной групп при парентеральном аэрозольном применении. В остальных группах прослеживалось уменьшение количества палочковидных микомедиафилов. К 14 дню их содержание снижалось в тонком кишечнике у цыплят контрольной и первой опытной групп и в толстом кишечнике первой и второй опытных групп как при энтеральном, так и при парентеральном аэрозольном применении пребиотика-лизата. На 21 день жизни снижение содержания микомедиафилов отмечалось только в толстом кишечнике у цыплят третьей группы как при энтеральном, так и при парентеральном аэрозольном применении. К концу исследований содержание микомедиафилов в тонком и толстом кишечнике цыплят опытных и контрольной групп при энтеральном применении уменьшалось, а при парентеральном у цыплят первой опытной и контрольной групп применения увеличивалось.

Заключение. Симбиотный микробиоценоз цыплят-бройлеров представлен бифидобактериями, лактобактериями и кишечной палочкой. Пребиотик-лизат «Бифилиз-Н» оказывал влияние на микробиологические показатели кишечника молодняка птиц в зависимости от дозы и способа применения препарата. Наиболее выраженные изменения в микробиоценозе наблюдались в первой опытной группе как при энтеральном внутреннем, так и при парентеральном аэрозольном применении пребиотика-лизата «Бифилиз-Н». Впервые в кишечнике цыплят-бройлеров обнаружены палочковидные микомедиафилы, способные культивироваться на среде для грибов.

Литература. 1. Борознова, А.С. Пробиотики и пребиотики для профилактики желудочно-кишечных заболеваний в птицеводстве / А.С. Борознова // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия. – Горки, 2011. – Вып. 14, ч.1.- С. 206-214. 2. Зыкин, Л.Ф. Клиническая микробиология для ветеринарных врачей: учебное пособие для студентов вузов по спец. «Ветеринария» / Л.Ф. Зыкин, З.Ю. Хапцев ; ред. Т.С. Молочаева ; Международная ассоциация «Агрообразование». – Москва : КолосС, 2006. – 96 с. 3. Пробиотики, пребиотики, эрбиотики, симбиотики / Н.А. Попков [и др.] // Корма и биологически активные вещества. – Минск : Беларуская навука, 2005. – С. 556–572. 4. Степаненко, И.П. Влияние пробиотического препарата стрептобифидафорте на иммуногенез и формирование кишечного микробиоценоза цыплят : автореф. дис. ... канд. биол. наук / И.П. Степаненко ; Всероссийский НИИ контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов. – Москва, 2001. – 21 с. 5. Стимуляция естественной резистентности, иммунной реактивности и продуктивности цыплят-бройлеров пребиотиком «Бифилиз-Н» / А.С. Борознова, Л.М. Пивовар / X Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Аграрное производство и охрана природы», 26-27 мая 2011г.- Витебск, 2011. – С. 17-18. 6. Тимошко, М.А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М.А. Тимошко. – Кишинев : Штиинца, 1990. – 169 с. 7. Colonization of gastrointestinal tract of turkeys after probiotics and prebiotics application / M. Kacaniova [et al] // Slovak j. of animal science. – 2006. – Vol. 39, № 3. – P. 155–159. 8. Effect of housing systems and probiotic supplementation on methane production and body composition of crossbred calves / S.N.Rokde [et al] // Indian J. anim. Sc. – 2001. – Vol. 71, № 5. – P. 468–471. 9. Fuller, R. The chicken gut microflora and probiotic supplements / R. Fuller // Poultry Sc. – 2001. – Vol. 38, № 3. – P. 189–196.

Статья передана в печать 29.02.2012 г.

УДК 619:616.98:578.831.3:615.373.636.4

ПРЕВЕНТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ ПНЕВМОНИИ СВИНЕЙ, СОДЕРЖАЩЕЙ АНТИТЕЛА К PASTEURELLA MULTOCIDA СЕРОТИПОВ А, В, D и BORDETELLA BRONCHISEPTICA

Вербицкий А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В статье автором изложена информация по изучению превентивной активности гипериммунной сыворотки против пневмонии свиней, содержащей антитела к Pasteurella multocida серотипов А, В, D и Bordetella bronchiseptica в тесте пассивной защиты in vivo на белых мышах.

The author presents information on studying the preventive activity of a hyperimmune serum containing Pasteurella multocida A, B, D and Bordetella bronchiseptica antibodies against swine pneumonia in an in vivo test for white mice.

Введение. Респираторные болезни свиней имеют широкое распространение во всех странах мира с развитым свиноводством и наносят огромный экономический ущерб отрасли. К респираторным болезням инфекционной этиологии причисляют воспалительные процессы, вызываемые, как правило, бактериями и вирусами. Возможно поражение легких метастронгилюсами и личинками аскарид.

Регистрируемые в послеотъемный период пневмонии часто имеют бактериальную структуру. При этом все бактериальные респираторные патогены, в зависимости от способности вызывать заболевание, подразделяют на три группы. В первую группу входят основные (первичные) вдыхаемые бактериальные патогены, при введении которых в трахею пороссятам развивается пневмония. Они имеют факторы вирулентности, преодолевающие естественную защиту в легких. К этой группе относят Mycoplasma hyorhynidis, Actinobacillus pleuropneumoniae, Bordetella bronchiseptica. Вторая группа включает второстепенные (вторичные) вдыхаемые патогены, при введении которых в трахею пороссятам не развивается пневмония. Для ее развития требуются повреждения легких, обусловленные пневмотропными вирусами или микоплазмами. В эту группу входят Pasteurella multocida, Haemophilus parasuis, Streptococcus suis, Mycoplasma hyorhynidis. В третью группу входят бактериальные патогены, переносимые кровью при развитии септицемии. К этой группе относят Salmonella choleraesuis, Actinobacillus suis, Actinomyces pyogenes (Arcanobacterium pyogenes) [5].

При анализе спектра возбудителей бактериальных пневмоний по результатам бактериологических исследований патматериала установлено, что *Bordetella bronchiseptica* выделяется в 5-30% случаев. Ее часто обнаруживают в носовой полости здоровых поросят и других млекопитающих, включая собак и кошек. *Bordetella bronchiseptica* является первичным легочным патогеном для молодых поросят (до 4-недельного возраста) и второстепенным патогеном для поросят в период дорастивания и откорма. Она повышает чувствительность поросят к другим респираторным патогенам. Размножаясь в носовой полости, бордетелла выделяет цитотоксин, который вызывает атрофию раковин и создает условия для размножения пастерелл. *Pasteurella multocida* циркулирует почти во всех свиноводческих хозяйствах. Здоровые свиньи часто являются носителями пастерелл. Их, как правило, обнаруживают в носовой полости и миндалинах. Различают пять капсульных серотипов *Pasteurella multocida* (A, B, D, E, F) три из которых (A, B, D) обнаружены у свиней. Из пораженных легких часто выделяют серотип A, реже серотипы B и D. В комбинации пастерелл с другими патогенами тяжесть поражений легких увеличивается [2, 5, 6].

Для лечения свиней, больных пневмонией пастереллезной и бордетеллезной этиологии, используют многочисленные антибактериальные препараты. Однако применение антибиотиков имеет большое количество негативных и побочных действий, связанных с их токсическим, иммунодепрессивным и дисбактериальным действием как на организм животных, так и людей, употребляющих в пищу мясо от этих животных, что обуславливает необходимость создания гипериммунной сыворотки. Ценность сывороточных препаратов заключается еще и в том, что сывороточные белки пополняют организм энергетическими и пластическими веществами, оказывают неспецифическое действие на организм, повышают его тонус и тем самым способствуют выздоровлению больного животного. Применение гипериммунной сыворотки повышает функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Лечебное действие иммунных сывороток непосредственно связано с наличием в их составе в первую очередь Ig G и Ig M. По мнению многих авторов, антитела в основном могут воздействовать на микроорганизмы двумя путями. Первый путь – антитела изменяют поверхность микробов так, что лизоцим реагирует с мурамилпептидом клеточной стенки и происходит ее разрыв. Другой путь – антитела изменяют поверхность микроорганизмов таким образом, что микробная клетка становится более доступной для поглощения ее фагоцитами [3, 4, 8].

В связи с вышеуказанным целью нашей работы явилось изучение превентивной активности полученной нами гипериммунной сыворотки против пневмонии свиней, содержащей антитела к *Pasteurella multocida* серотипов A, B, D и *Bordetella bronchiseptica*.

Материалы и методы исследований. В опыте использовали гипериммунную сыворотку против пневмонии свиней, содержащую антитела к *Pasteurella multocida* серотипов A, B, D и *Bordetella bronchiseptica*, изготовленную в условиях УП «Витебская биофабрика» 19.08.2009г., серия 1, контроль 1.

Для заражения лабораторных животных отбирались эпизоотические штаммы бактерий входящих в испытуемую сыворотку. У отобранных штаммов изучали морфологические, культуральные и биохимические свойства согласно общепринятым методикам [7,9]. В последующем определяли ЛД₅₀ для каждого бактериального штамма, использованного в опыте. Культуры пастерелл и бордетелл выращивали в матрах с МПА+10% сыворотки крови лошади, на поверхность которых вносили 5-10 мл расплодки, полученной из лиофильно высушенных флаконов, равномерно распределяли покачиванием. Выращивание бактерий проводили в течение 18-24 часов при температуре 37°C.

Выросшие культуры смывали физиологическим раствором pH 7,2-7,4 и доводили этим же раствором до концентрации 10⁸ м.к./мл. После этого делали десятикратные разведения смыва физиологическим раствором до концентрации 10¹ м.к./мл. Каждое разведение культуры нумеровали.

Для проведения опыта по определению ЛД₅₀ для каждого штамма брали 9 групп белых мышей по 7 животных в каждой группе. Каждой группе животных вводили соответствующий раствор смыва в объеме 0,5 мл. В течение 10 дней за животными вели наблюдения, регистрируя число погибших и выживших животных в каждой группе. Схема опыта по определению патогенности штаммов приведена в таблице 1.

Таблица 1 - Схема опыта по определению патогенности штаммов

№ группы	№ вводимого раствора	Концентрация м.к. в 1 мл	Доза на животное, мл	Концентрация м.к. на жив-е
1	1	1×10 ⁸	0,5	0,5×10 ⁸
2	2	1×10 ⁷	0,5	0,5×10 ⁷
3	3	1×10 ⁶	0,5	0,5×10 ⁶
4	4	1×10 ⁵	0,5	0,5×10 ⁵
5	5	1×10 ⁴	0,5	0,5×10 ⁴
6	6	1×10 ³	0,5	0,5×10 ³
7	7	1×10 ²	0,5	0,5×10 ²
8	8	1×10 ¹	0,5	0,5×10 ¹
9	Физ.р-р	-	-	-

Расчет ЛД₅₀ проводили методом Кербера в модификации Ашмарина [1] по формуле:

$$ЛД_{50} = -lgDп - d(\sum li - 0,5),$$

где Dп - доза, дающая максимальный эффект; li - отношение числа животных, погибших при заражении данной дозой, к общему числу зараженных этой дозой; i - номер дозы (минимальную дозу принимают за первую); d - логарифм кратности разведения.

Превентивную активность испытуемой сыворотки определяли в тесте пассивной защиты in vivo на 96 белых мышках живой массой 14-16 г. По принципу условных аналогов сформировали 2 группы лабораторных жи-

вотных (опытную и контрольную). Опытная группа была разделена на 4 подгруппы, в которых находилось по 18 животных. Контрольную группу также разделили на 4 подгруппы, в которых находилось по 6 лабораторных животных.

Мышам опытной группы вводили исследуемую сыворотку подкожно в области спины, ближе к корню хвоста в количестве 0,02; 0,1; и 0,5 см³, используя на дозу по 6 мышей. Контрольных животных не иммунизировали.

Через 24 часа после иммунизации всех мышей (опытных и контрольных) заражали 4 LD₅₀ суточных агаровых культур трех штаммов пастерелл и одного бордетелл (входящих в состав сыворотки). Для этого мышам первой подгруппы (обеих групп) заражали *P. multocida* серотипа А, второй – *P. multocida* серотипа В, третьей – *P. multocida* серотипа D и четвертой – *B. bronchiseptica*. Наблюдение за животными вели в течение 10 дней.

Результаты исследований. В результате изучения морфологических, культуральных, ферментативных, патогенных и антигенных свойств установлено, что *Pasterella multocida* серотипа А, В и D – граммотрицательные, короткие с закругленными концами овоидные палочки, спор не образуют, неподвижны. При окраске по Романовскому-Гимзе или Леффлеру пастереллы выглядят, как овоиды или короткие палочки с закругленными концами и заметной биполярностью, вокруг которых может быть видна прозрачная капсула. *Bordetella bronchiseptica* – мелкие граммотрицательные овоидные палочки, капсул и спор не образуют, биполярность отсутствует, подвижны.

Рост пастерелл в первые дни (24-48ч) выращивания на жидких питательных средах сопровождался легким равномерным помутнением, на 4-5 сутки на дне пробирки образовывался характерный слизистый осадок, поднимающийся при встряхивании в виде неразбивающейся косички, с полным просветлением бульона. На плотных сывороточных средах пастереллы росли в виде мелких прозрачных круглых колоний с ровными краями, при дальнейшем культивировании колонии приобретали серо-белый цвет; при росте на кровяном агаре не образовывали зону гемолиза.

Бордетеллы при культивировании на жидких питательных средах вызывали равномерное помутнение с последующим образованием осадка и пристеночного кольца, легко разбивающегося при встряхивании. На поверхности МПА, бордетеллагара, казеиново-угольного агара через 24 часа образовывались полупрозрачные, розинчатые, блестящие, выпуклые колонии размером с булавочную головку. Они имели маслянистую консистенцию, легко снимающуюся бактериологической петлей. Через 48-72 ч колонии приобретали серо-белый цвет.

В биохимическом отношении штаммы *Pasterella multocida* серотипа А, В и D ферментировали глюкозу, сахарозу, маннозу и маннит с образованием кислоты без газа, не свертывали молоко, редуцировали нитраты, образовывали индол, не расщепляли мочевины. *Bordetella bronchiseptica* не ферментировала сахара и многоатомные спирты, расщепляла мочевины, образовывала сероводород, не образовывала индол, росла на среде Симмонса, редуцировала нитраты и давала положительную пробу на каталазу.

В ходе опыта по изучению превентивной активности все животные контрольной группы пали через 1-4 дня после заражения. После гибели трупы всех животных были подвергнуты бактериологическому исследованию, в результате которого из внутренних органов павших мышей были реизолированы соответствующие штаммы микроорганизмов, которыми их заражали. Испытуемая сыворотка защищала опытных животных в зависимости от дозы. Результаты изучения превентивной активности гипериммунной сыворотки против пневмонии свиней, содержащей антитела к *Pasteurella multocida* серотипов А, В, D и *Bordetella bronchiseptica* представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Превентивная активность гипериммунной сыворотки против пневмонии свиней, содержащей антитела к *Pasteurella multocida* серотипов А, В, D и *Bordetella bronchiseptica*

Наименование Препарата	Группа животных	Серогруппа сальмонелл	Доза сыворотки, см ³	Заражено мышей		Из них выжило	
				кол-во	из них пало	кол-во	%
гипериммунная сыворотка против пневмонии свиней, содержащая антитела к <i>P. multocida</i> серотипов А, В, D и <i>B. bronchiseptica</i>	опытная	<i>P. multocida</i> (А)	0,02	6	4	2	33,3
			0,1	6	2	4	66,6
			0,5	6	0	6	100
		<i>P. multocida</i> (В)	0,02	6	5	1	16,6
			0,1	6	3	3	50,0
			0,5	6	0	6	100
		<i>P. multocida</i> (D)	0,02	6	3	3	50,0
			0,1	6	0	6	100
			0,5	6	0	6	100
		<i>B. bronchiseptica</i>	0,02	6	4	2	33,3
			0,1	6	1	5	83,3
			0,5	6	0	6	100
интактные животные	контрольная	<i>P. multocida</i> (А)	-	6	6	0	-
		<i>P. multocida</i> (В)	-	6	6	0	-
		<i>P. multocida</i> (D)	-	6	6	0	-
		<i>B. bronchiseptica</i>	-	6	6	0	-

Данные таблицы свидетельствуют, что исследуемая гипериммунная сыворотка в дозе 0,02 см³ предохраняла мышей от гибели, вызванной *P. multocida* серотипа А – 33,3% животных, серотипа В – 16,6% животных, серотипа D – 50% и *B. bronchiseptica* – 33,3% животных; в дозе 0,1 см³ – 66,6%, 50%, 100% и 83,3% соответственно; в дозе 0,5 см³ – защита обеспечивалась 100% опытных животных.

Заключение. В результате проведенной нами работы установили, что гипериммунная сыворотка против пневмонии свиней, содержащая антитела к *P. multocida* серотипов А, В, D и В. *bronchiseptica* обладает 100%-ной превентивной активностью в дозе 0,5 см³ для мышей.

Литература. 1. Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П.Ашмарин, А.А.Воробьев // М.: Медгиз, 1962. - 125 с. 2. Кожевников С.В., Душук Р.В., Татаринцев Н.Т. Бордетеллез свиней / С.В.Кожевников, Р.В.Душук, Н.Т.Татаринцев// М.: ВНИИТЭИ агропром, 1990. – 40 с. 3. Медведев, А.П. Основные методологические приемы и принципы получения лечебно-профилактических диагностических сывороток / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001. – № 2. – С. 7–8. 4. Медведев, А.П. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. – Витебск: ВГАВМ, 2010.-200с. 5. Орлянкин, Б.Г. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б.Г. Орлянкин // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: сб. науч. тр. по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения заслуженного деятеля наук РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора, академика ВАСХНИЛ Я.Р. Коваленко, ГНУ ВНИИЭВ 16-17 мая 2006 года, Москва. – Москва : ИзографЪ, 2006. – С. 135–138. 6. Пейсак, З. Болезни свиней / Зигмунт Пейсак; пер. с польского Д.В. Потапчука. – Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. – 424с. 7. Положение о паспортизации и депонировании штаммов микроорганизмов / А.П. Лысенко [и др.] ; Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесского НАН Беларуси. – Минск, 2006. – 28 с. 8. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В. В. Максимович [и др.] // Научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесского НАН Беларуси. – Минск, 2005. – Вып. 38 : Ветеринарная наука – производству. – С. 359–361. 9. Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии. Сост. А.Э.Высоцкий, З.Н.Барановская. – Минск: Белтажсервис, 2008. – С. 509-515, 596-655.

Статья передана в печать 27.02.2012 г.

УДК 619:616.98:579.843.95:615.371:636.4

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

Гвоздев С.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Применение инактивированной эмульгированной вакцины против пастереллеза свиней опытной серии позволило сократить непроизводительное выбытие поросят от респираторных болезней и показало необходимость включения вакцинации в противозооотические мероприятия по борьбе с пастереллезом свиней.

The administration of the test batch of emulgated vaccine against porcine pasteurellosis helped reduce the mortality among the pigs from respiratory illnesses and showed the need for the use of the vaccine for the disease control.

Введение. Пастереллез – болезнь животных, приносящая большой экономический ущерб животноводческим, в том числе свиноводческим, хозяйствам и птицефабрикам [1, 2]. Заболевание распространено во всех странах мира [1].

Экономический ущерб от пастереллеза складывается из потерь от падежа, вынужденного убоя больных животных и затрат на проведение оздоровительных и профилактических мероприятий. Летальность при этой болезни колеблется от 10 до 75 %, а иногда и выше [1, 3].

Распространение пастереллеза и динамика заболеваемости животных является составляющей частью эпизоотического процесса. Изучение эпизоотического процесса по инфекционным болезням, в том числе и по пастереллезу свиней, представляет интерес для практиков. Изучение этиологической структуры пастереллеза позволяет целенаправленно разрабатывать и проводить мероприятия по профилактике и борьбе с ним [4, 5].

Результаты исследований, проводимых в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесского» [1, 2, 5, 6], и анализ ветеринарной отчетности Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Минсельхозпрода Республики Беларусь за последние 5 лет показали, что пастереллез свиней на протяжении этого периода находился в числе наиболее распространенных инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями. Пастереллезом в Республике Беларусь за последние пять лет заболело 15210 голов свиней, из них пало 4070, что составляет 27% от всех заболевших животных.

В настоящее время в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь пастереллез свиней (7,9 %) занимает третье место после сальмонеллеза (11,15 %) и колибактериоза (8,32 %). В плане проводимых противозооотических мероприятий (по данным отчетности Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Минсельхозпрода Республики Беларусь) пастереллез занимает четвертое место (596565 вакцинаций) после рожь свиней (2352849), сальмонеллеза (890612), лептоспироза (794198).

Несмотря на проводимые лечебно-профилактические мероприятия падеж свиней и телят от пастереллеза хотя и имеет тенденцию к снижению, продолжает оставаться на высоком уровне. Анализ зависимости между уровнем вакцинации животных против пастереллеза (количество вакцинированных в процентном выражении к среднегодовому поголовью) и заболеваемостью (количество заболевших пастереллезом свиней на 100 тыс. поголовья), проведенный за последние годы, показывает обратную корреляционную зависимость между этими показателями.

Одним из важных моментов успешной борьбы с пастереллезом является своевременное применение средств специфической профилактики [7,8]. В Республике Беларусь в целях предотвращения возникновения и распространения пастереллеза среди животных применяются закупаемые за рубежом вакцины: Фармолвакцина