

УДК 619:616.98:579.843.95:615.37:636.4

ИММУННАЯ АКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ**Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В статье идет речь о проведении исследований, направленных на изучение стерильности, безвредности и иммунной активности вакцины против пастереллеза свиней для организма лабораторных животных, а именно белых мышей и кроликов.

The article presents researches for studying sterility, safety and immune response of the killed vaccine batch against porcine pasteurellosis for laboratory animals, e.g. white mice and rabbits.

Введение. Активное развитие свиноводческой отрасли в 70-х годах 20 века привело не только к положительному эффекту – увеличению выпускаемой продукции, но и к увеличению случаев возникновения инфекционных заболеваний. Отнюдь не последнее место среди инфекций занимает пастереллез. Среди болезней свиней данное заболевание по количеству случаев регистрации занимает третье место, уступая лидерство лишь колибактериозу и сальмонеллезу.

Ежегодно на профилактику и лечение данного заболевания тратятся значительные денежные средства. Профилактическая вакцинация животных является обязательной для свиноводческих комплексов Республики Беларусь. Однако несмотря на все принимаемые меры ветеринарными специалистами, данное заболевание и по нынешний день остается актуальным. Используемые в настоящее время для профилактики и борьбы с пастереллезом биопрепараты не всегда приносят ожидаемый эффект.

Ведущая роль в возникновении пастереллеза свиней принадлежит *P. multocida* (капсульные серовары А, В, D, Е). Серовар В вызывает острое течение болезни (геморрагическую септицемию). Серовары А и D виновны в возникновении заболевания органов дыхания.

Ведущее место в профилактике пастереллеза отводится вакцинам [1 – 3, 6 – 8]. Для профилактики заболевания применяют как живые, так и инактивированные вакцины. Последние получают все большее распространение, так как в отличие от живых вакцин не обладают остаточной вирулентностью и реактогенностью. Однако инактивированные вакцины имеют все же один недостаток – они обладают более низкой иммуногенностью по сравнению с живыми вакцинами. Более низкая иммуногенность вызвана действием инактивирующего вещества на антигенные структуры клеток микроорганизмов, повреждающая их [4, 5]. Для повышения иммуногенности инактивированных вакцин применяют адъюванты, которые препятствуют быстрому всасыванию вакцины и таким образом создают депо специфического антигена в организме на месте введения. Все чаще, производители биопрепаратов, а в частности инактивированных вакцин, в качестве адъювантов используют адъюванты фирмы Seppic.

Нами, в частности, также для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза свиней был использован адъювант этой фирмы -Montanide ISA 206.

Цель исследования – изучить иммуногенность полученной производственной серии вакцины против пастереллеза свиней на белых мышах и кроликах.

Материалы и методы. Материалы – штаммы *P. multocida* 9, 656 и 1231 в качестве антигена; инактивированная вакцина против пастереллеза свиней; адъюванты Montanide ISA 206; 65 белых мышей массой 18 – 20 г; 8 кроликов массой 2,0 – 2,5 кг; питательные среды – МПА, МПБ, Сабуро и Кита-Тароцци, 0,5% раствор бриллиантовой зелени.

Все исследования подразделены на несколько этапов.

На первом этапе была получена производственная серия инактивированной вакцины против пастереллеза свиней. Для ее изготовления использовали в качестве антигена инактивированные штаммы *P. multocida* серовариантов А, В, D. Масляной фазой был использован адъювант Montanide ISA 206. Инактивированные сероварианты *P. multocida* смешивали в равных объемах. Концентрация микробных клеток в 1 мл вакцины должна была составить 7,5 млрд. С этой целью брали в одинаковом объеме 15 млрд. культур пастерелл серовариантов А, В и D и смешивали в соотношении 1:1:1. Далее к адъюванту Montanide ISA 206, предварительно нагретому до 30±1 °С, доливали при постоянном перемешивании со скоростью 1000 об/мин смесь микробной массы. Перемешивание продолжалось 5 минут, после чего полученную эмульсию разлили по стерильным флаконам. Адъювант с антигеном смешивали в пропорции 50:50 по массе. Это соотношение является наиболее оптимальным.

На следующем этапе провели исследование полученной вакцины против пастереллеза свиней. При этом проверили вакцину на стерильность, определяли безвредность и иммуногенность. В качестве лабораторных животных использовали белых мышей массой 18 – 20 граммов, а также белых кроликов массой 2,0 – 2,5 кг.

Стерильность полученных препаратов проверяли путем посева на МПА, МПБ, среду Сабуро и Кита-Тароцци.

Для определения безвредности вакцину вводили 5 белым мышам массой 20-25 г подкожно в область спины по 0,5 см³. Наблюдение за животными вели в течение 10 суток. Вакцина считалась безвредной, если в течение 10 суток гибель животных не наблюдалась.

Определяя иммуногенность полученной вакцины против пастереллеза свиней на мышах, препарат животным вводили подкожно в область спины. С этой целью в опыте было использовано 60 мышей. Для определения иммуногенности препарата на белых мышах было сформировано 15 групп мышей, по 4 животных в каждой. 3 группы мышей предварительно были иммунизированы однократно в дозе 0,1 см³. Мышей 4 – 6 групп прививали двукратно с интервалом в 10 дней в дозе 0,1 см³. Животных 7 – 9 групп иммунизировали однократно в дозе 0,2 см³. Животных 10 – 12 групп иммунизировали двукратно с интервалом в 10 дней в дозе 0,2 см³ вакцины на животное. Животные 13 – 15 групп служили контролем. Их иммунизации не подвергали. После

повторной иммунизации 4 – 6 и 10 – 12 групп за животными было установлено наблюдение в течение 10 дней, во время которого животные всех групп оставались клинически здоровыми. Через 10 дней животных всех групп подвергли экспериментальному заражению. Причем, животных 1, 4, 7, 10 и 13 групп заражали серовариантом *Pasteurella multocida* животных 2, 5, 8, 11 и 14 групп заражали серовариантом В, а животных оставшихся 3, 6, 9, 12 и 15 групп вводили *P. multocida* сероварианта D. При этом каждый серовариант использовали в дозе 0,5 см³, содержащей 3 ЛД₅₀. Доза 3 ЛД₅₀ для данных серовариантов была установлена ранее при их паспортизации. Схему иммунизации и заражения можно увидеть в таблице 1.

Данная часть опыта проводилась в условиях УП «Витебская биофабрика».

На следующем этапе исследований была изучена иммуногенная активность полученной производственной серии вакцины на кроликах. С этой целью использовали 8 кроликов живой массой 2,0 -2,5 кг. Всех животных поделелили на 4 группы по два животных в каждой. Животных первых трех групп прививали двукратно с интервалом в 14 дней внутримышечно инактивированной вакциной против пастереллеза свиней в дозе 1,0 мл на животное. Два остальных кролика (четвертая группа) служили контролем – им вводили внутримышечно в дозе 1,0 мл на животное двукратно с интервалом 14 дней изотонический раствор натрия хлорида. Затем за всеми животными велось наблюдение в течение 10 дней с момента повторного введения вакцины.

Животных первой группы заражали подкожно в дозе 3ЛД₅₀ серовариантом А, второй группы – серовариантом В, а третьей группы – серовариантом D. Контрольных (не иммунизированных) животных четвертой группы заражали смесью серовариантов в равном количестве по массе. Схему иммунизации можно наблюдать в таблице 2. После заражения за животными установили наблюдение, которое продолжалось в течение 10 дней. Следует также упомянуть, что среди кроликов скрытое пастереллоносительство является очень частым, и в неблагополучном стаде может достигать до 70%.

Таблица 1 - Схема иммунизации инактивированной масляной вакциной против пастереллеза свиней

Номер группы	Количество животных	Доза вакцины на первое введение (см ³)	Доза вакцины на второе введение (см ³) через 10 дней	Доза заражения	Серовариант возбудителя
1	4	0,1	-	3 ЛД ₅₀	Серовар А
2	4	0,1	-	3 ЛД ₅₀	Серовар В
3	4	0,1	-	3 ЛД ₅₀	Серовар D
4	4	0,1	0,1	3 ЛД ₅₀	Серовар А
5	4	0,1	0,1	3 ЛД ₅₀	Серовар В
6	4	0,1	0,1	3 ЛД ₅₀	Серовар D
7	4	0,2	-	3 ЛД ₅₀	Серовар А
8	4	0,2	-	3 ЛД ₅₀	Серовар В
9	4	0,2	-	3 ЛД ₅₀	Серовар D
10	4	0,2	0,2	3 ЛД ₅₀	Серовар А
11	4	0,2	0,2	3 ЛД ₅₀	Серовар В
12	4	0,2	0,2	3 ЛД ₅₀	Серовар D
13*	4	-	-	3 ЛД ₅₀	Серовар А
14*	4	-	-	3 ЛД ₅₀	Серовар В
15*	4	-	-	3 ЛД ₅₀	Серовар D
Итого	60 животных				

Примечание: - группы контрольных животных

Таблица 2 - Схема иммунизации и заражения кроликов

Группа	Количество животных	Доза вакцины (мл / животное двукратно)	Доза заражения (мл / животное)	Серовариант <i>P. multocida</i>
1	2	1	0,5	А
2	2	1	0,5	В
3	2	1	0,5	D
4	2	физиологический раствор 1 мл	0,5	А,В,D

С целью избежания получения недостоверных результатов нами перед началом опыта была проведена работа с животными по проверке на пастереллоносительство. С этой целью всем животным ежедневно в течение трех дней вводили в обе ноздри по 0,2 мл 0,5% водного раствора бриллиантовой зелени. Затем за животными вели трехдневное наблюдение. Появление гнойного истечения из ноздрей свидетельствует о пастереллоносительстве.

Результаты исследований. После проведения исследований нами были получены следующие результаты. При исследовании на проверку стерильности полученной вакцины рост на МПА, МПБ, среде Сабуро и Кита-Тароцци отсутствовал, что свидетельствует о стерильности полученной вакцины.

Затем, при изучении безвредности вакцины на белых мышах все животные остались живы и были клинически здоровы на протяжении всего опыта. Это свидетельствует о безвредности вакцины для организма лабораторного животного, а в частности – организма белой мышки.

При изучении иммуногенности полученной вакцины на белых мышах были получены результаты, которые можно видеть в таблице 3.

Как видно из таблицы, все контрольные животные, не привитые инактивированной вакциной против пастереллеза свиней, пали. В группе животных, которые были привиты однократно в дозе 0,1 мл на животное и после заражались *P. multocida* сероварианта А, в живых осталось только 3 животных из 4.

Таблица 3 - Иммуногенная активность инактивированной вакцины против пастереллеза свиней для белых мышей

Серовариант	Количество животных	Доза вакцины (мл)	Всего пало	Выжило
А	4	0,1	1	3
	4	0,2	0	4
	4	0,1 (п)	0	4
	4	0,2 (п)	0	4
	4	Контроль	4	0
D	4	0,1	2	2
	4	0,2	0	4
	4	0,1 (п)	0	4
	4	0,2 (п)	0	4
	4	Контроль	4	0
B	4	0,1	1	3
	4	0,2	0	4
	4	0,1 (п)	0	4
	4	0,2 (п)	0	4
	4	Контроль	4	0

Примечание: (п) – повторное введение вакцины (смотреть схему иммунизации)

Аналогичная ситуация наблюдается и в группе, в которой мышей также прививали однократно в дозе 0,1 мл на животное, а затем заражали *P. multocida* серовариантом В. В группе, в которой мышей прививали в дозе 0,1 мл на животное, а затем заражали серовариантом D, к концу опыта выжила лишь половина животных (два из четырех). В остальных группах, за исключением контрольной, в которых животных прививали в дозах 0,1 мл двукратно, в дозе 0,2 однократно и двукратно, гибель животных не наблюдалась. Полученные данные свидетельствуют о том, что выпущенная вакцина предохраняет организм лабораторного животного, а в частности организм белой мышки, от заболевания и последующей гибели от пастереллеза свиней, который вызван серовариантами А, В и D *P. multocida*. Животные, привитые инактивированной вакциной против пастереллеза свиней, остаются клинически здоровыми на протяжении всего опыта и выдерживают контрольное заражение дозой, превышающей ЛД₅₀ в три раза. А это в свою очередь говорит о высокой иммуногенности препарата.

При изучении иммуногенной активности инактивированной вакцины против пастереллеза свиней на кроликах, было установлено, что кролики не являются пастереллоносителями, так как гнойные выделения из носовых ходов отсутствовали. Также было установлено, что данная вакцина сохраняет кроликов от всех трех серовариантов *P. multocida*. Эти данные можно наблюдать в таблице 4.

Как видно из таблицы, в первых трех группах, в которых животные подверглись двукратной иммунизации с интервалом в 14 дней, гибель кроликов не наблюдалась. Кроме того, животные в данных группах оставались клинически здоровыми на протяжении всего периода наблюдения, охотно принимали пищу. Кролики четвертой, контрольной группы, которые не подвергались иммунизации, пали на 2 и 3 день соответственно.

Таблица 4 - Иммуногенность инактивированной вакцины против пастереллеза свиней для кроликов

Группа	Число зараженных животных	Число выживших животных	% летальности
1	2	0	0
2	2	0	0
3	2	0	0
4	2	2	100

Трупы павших животных подвергли патологоанатомическому исследованию. При этом у павших животных при патологоанатомическом исследовании наблюдалась следующая схожая картина: выраженная острая венозная гиперемия и отек легких, острый катаральный ринит и трахеит, увеличение селезенки, зернистая дистрофия печени и почек, миокардиодистрофия с расширением правых сердечных полостей, общий венозный застой. В области левого бедра геморрагическая инфильтрация мягкой ткани (место введения антигена). От этих животных был отобран патологический материал для бактериологического исследования. После проведенного бактериологического исследования были реизолированы штаммы микроорганизмов, использованные для заражения.

Заключение. В ходе проведенных исследований были получены следующие данные:

1. Полученная вакцина против пастереллеза свиней стерильна и безвредна для организма лабораторных животных, а также обладает высокой иммуногенной активностью.
2. Данная вакцина предотвращает заболевание белых мышей при двукратном использовании ее в дозе 0,1 мл на животное, и при однократной иммунизации мышей дозой 0,2 мл вакцины на животное.
3. Инактивированная вакцина против пастереллеза свиней вызывает формирование иммунитета у кроликов при двукратной иммунизации последних в дозе 1 мл на животное с интервалом в 14 дней и обеспечивает 100% сохранность кроликов.

Литература. 1. Вербицкий, А.А. Влияние адъювантов на реактогенность и иммуногенность вакцины против пастереллеза свиней / А.А. Вербицкий, С.Н. Гвоздев // Проблемы зооинженерии та ветеринарної медицини: збірник наукових праць / ХДЗВА. – Харків, 2008. – Вып. 16, ч. 2, т. 3. – С. 80 – 86. 2. Иммуногенность вакцин против пастереллеза свиней / Р.В. Душук [и др.] // Ветеринария. – 1997. - №10. – С. 18 – 20. 3. Иммуногенные свойства штаммов *Pasteurella multocida* / В.В.

Каширин // Ветеринария. -1995. - №10. – С. 25 – 29. 4. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов / Н.Б. Бушуева, М.Я. Ярцев // Ветеринария. – 1997. - №11. – С. 23 – 25. 5. Получение аттенуированного штамма *P. multocida* / А.В. Леонов, В.В. Гусев // Ветеринария. – 2004. - №10. – С. 23 – 26. 6. Профилактика пастереллеза сельскохозяйственных животных на современном этапе / Н.Н. Андросик, Ю.Г. Лях // Весці акадэміі аграрных навук Рэспублікі Беларусь. – 2000. -№4. – С. 62 – 64. 7. Совершенствование специфической профилактики пастереллеза / В.Е. Заерко, В.И. Ситыков, И.К. Тутов // Ветеринария. – 2000. – №6. – С. 20 – 22. 8. Сравнительное изучение эффективности противопастереллезной вакцины для свиней / Х.В. Саркисян [и др.] // Ветеринарная патология. – 2003. - №1. – С. 135 – 138.

Статья поступила 24.02.2010 г.

УДК: 619: 616.8: 636.1

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ И ПРОФИЛАКТИКА ЗАРАЗНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЛОШАДЕЙ В УКРАИНЕ

Галатюк А.Е., Бегас В.Л.

Житомирский национальный агроэкологический университет,
г. Житомир, Украина

В работе представлена эпизоотическая ситуация по заразным заболеваниям лошадей в Украине. Установлено широкое распространение гельминтозов и герпесвирусных инфекций 1-го и 2-го типов в конных хозяйствах. Разработаны профилактические мероприятия, направленные на недопущение заразных заболеваний лошадей.

In work the situation on infectious diseases of horses in Ukraine submitted epizootic. The wide circulation gelmintosis and herpesvirus 1 end 2 typus in farms is established. Preventive actions directed on banning infectious of horses are developed.

Введение. От качественного и стабильного ветеринарного обеспечения конных хозяйств, выполнения всех профилактических мероприятий зависит стабильная благополучная эпизоотическая ситуация и успешное развитие конных хозяйств [0]. Наиболее опасные заболевания лошадей - инфекционная анемия, сап, случная болезнь, африканская чума. При возникновении этих заболеваний лошадей уничтожают, так как они лечению не подлежат [0, 0, 0, 0]. Лошади, заболевшие бабезиозами, селариозом, гастрофилезами очень тяжело болеют и при отсутствии соответствующего лечения могут погибнуть. Некоторые заразные заболевания лошадей опасны для человека. Ринопневмония лошадей распространена во всех племенных хозяйствах мира и наносит большой экономический ущерб [0, 0, 0, 0]. Поэтому в государстве необходимо разрабатывать программы мониторинга и постоянно контролировать ситуацию относительно заразных заболеваний лошадей.

Материал и методы. Целью данной работы было изучение эпизоотической ситуации относительно заразных болезней лошадей в Украине. Эпизоотическая ситуация относительно инфекционных болезней лошадей в Украине изучалась нами в течение последних 27 лет на основе ретроспективного исследования и результатов собственных исследований конных хозяйств.

Результаты исследований. В товарных конных хозяйствах Украины до 2000 года были достаточно распространены инфекционная анемия, селариоз, бабезиозы. У лошадей спорадически возникают такие инфекционные болезни, как столбняк, сальмонеллез, лептоспироз, листериоз, ботриомикоз, стахиботриотоксикоз, дерматомикозы.

Встречаются одиночные случаи заболевания лошадей бешенством. Болеют периодически 2–3 лошади в одной или нескольких областях каждый год. За период изучения зарегистрированы три случая заболевания лошадей сибирской язвой в Николаевской, Харьковской и Хмельницкой областях.

В полесских и лесостепных областях Украины встречается инфекционная анемия лошадей, которая в основном протекает латентно. Анализ эпизоотической ситуации свидетельствует о том, что это заболевание распространено неравномерно. В 1983–1988 годах заболеваемость в зоне Полесья составляла 4,10–7,08%, в Лесостепи – 0,64–1,5%, в степи – 0,11–0,41%, а в 1998 г. в зоне Полесья – 1,39%, лесостепи и степи – 0%. Высокий процент поражений в 1986–1988 годах был в Житомирской (5,51–7,08%), Сумской (12,7–5,73%), Полтавской (0,18%) и Черниговской (6,88–1,82%) областях. За этот период заболевание регистрировалось в отдельных хозяйствах Львовской, Хмельницкой, Киевской областей. В 2007 году заболеваемость составляла 0,75% в 4-х областях зоны Полесья, и 0,29% в 2-х областях зоны лесостепи. В других 19 областях инфекционная анемия не регистрируется.

На данное время основной племенной генофонд лошадей размещен в 82 хозяйствах, где содержится от 20 и больше конематок. В данных хозяйствах содержится 389 жеребцов-производителей и 2883 кобылы. Во всех племенных конных хозяйствах встречаются такие паразитарные заболевания, как стронгилоидоз, стронгилоидозы, параскаридоз, оксиуроз, гастрофиле. Кроме того, в племенных хозяйствах часто возникает лептоспироз и герпесвирусные инфекции лошадей первого и второго типов. Лептоспироз у лошадей распространен по всей территории Украины. Заболевание протекает в форме иммунизирующей субинфекции, в отдельных хозяйствах отмечается клиническое проявление болезни, которое характеризуется конъюнктивитами, ринитами, дерматитами, абортами на последнем месяце жеребости, развитием слепоты у отдельных животных. В неблагополучных по лептоспирозу хозяйствах увеличивается количество реагирующих лошадей в РМА в титрах 1:50–1:100 до 50% и более, при этом появляется 2% и более животных, у которых антитела в РМА в титрах 1:200 и выше. У лошадей снижается аппетит, они быстро худеют, отдельные могут погибнуть, у жеребят отмечают риниты и бронхопневмонии. При вскрытии обнаруживают желтушность подкожной клетчатки, гепатит или цирроз печени, гломерулонефрит.

Регулярно, каждый год, у незначительной части конематок наблюдается рождение нежизнеспособных жеребят, аборт, рождения мертвых жеребят. Нами разработаны методы диагностики герпесвирусной инфекции первого типа у лошадей в РТГА, РН, РДП, ПЦР, а герпесвирусной инфекции второго типа - в РДП. Проведенные