

УДК 619:616.98:579.843.96

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ
ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE

*Андруевич А.С., **Вербицкий А.А., *Стрельченя И.И., *Толяронок Г.Е.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

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

В статье приводятся данные по изучению патогенных и антигенных свойств, иммунной активности штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Ключевые слова:** штаммы актинобацилл, патогенные свойства, образцы эмульгированной вакцины, адъювант, стерильность, безвредность, иммунная активность, антигенные свойства.

IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF THE VACCINES STRAIN
ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE

*Andrusevich A.S., **Verbitskiy A.A., *Strelchenia I.I., *Toljaronok G.E.

*Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S. Vyshellesskiy, Minsk, Republic of Belarus

**Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The article presents results of analysis of pathogenic and antigenic properties of immune activity *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. **Keywords:** strains *Actinobacillus*, pathogenic properties, emulsified vaccine samples, adjuvant, sterility, harmlessness, immune activity, antigenic properties.

Введение. На респираторную патологию свиней наряду с желудочно-кишечной в удельном весе приходится до 90% всего непроизводительного выбытия. Анализ заболеваемости свиней в странах Европы и Америки за последние годы показывает, что на долю болезней органов дыхания приходится в среднем 35-40%. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению пневмонии весьма разнообразны. У свиней они, как правило, регистрируются в послепослеродовый период и чаще - бактериальной этиологии.

Одним из препятствий интенсивного ведения свиноводства являются респираторные болезни, на долю которых приходится от 25 до 50% от общей заболеваемости.

Отечественными и зарубежными исследователями накоплен огромный фактический материал о роли вирусов, хламидий, микоплазм и других бактерий, а также их ассоциаций в возникновении респираторных патологий у животных [1, 3, 4, 6, 7, 8]. Вместе с тем многие вопросы этой проблемы требуют еще обстоятельного изучения. Так в последние годы внимание многих исследований обращено на изучение актинобациллярной плевропневмонии, впервые зарегистрированной и описанной P.R. Mettews, L.H. Pattison в 1961 году.

Актинобациллярная плевропневмония свиней (АПП) — инфекционное контагиозное заболевание, которое характеризуется при остром течении геморрагическим воспалением легких и фибринозным плевритом, а при подостром и хроническом — развитием очагово-гниной некротической плевропневмонии и фибринозным плевритом.

Это заболевание отмечается во всех странах с интенсивным ведением свиноводства и поражает поголовье, что ведет к снижению прибыли за счет увеличения смертности (20-40%), заболеваемости (до 90%), дополнительных затрат на корма и антибиотики, снижения привесов, а в итоге приводит к значительному экономическому ущербу. Наиболее массовый отход животных происходит в осенне-зимний и весенний периоды. Два пика сезонной заболеваемости приходятся на период с октября по декабрь и с марта по апрель (очевиден двухволновой характер эпизоотического процесса). В осенне-зимний период удельный вес всех павших поросят в период дорацивания наивысший и достигает 49-54%.

Анализ эпизоотических данных за ряд лет свидетельствует о том, что характерным является выраженная смена периода спада (межепизоотическая стадия) заболеваемости и падежа свиней фазой резкого ухудшения эпизоотической ситуации (пики заболеваемости), при которой удельный вес АПП на вскрытии достигает до 69%. Интервал между такими пиками составляет в среднем 2,5-3,5 года. В этом плане эпизоотический процесс АПП протекает по типу, близкому к протеканию облигатной патогенной инфекции, но таковой не является. При первичном заносе возбудителя в хозяйство заболеваемость составляет до 90%, в том числе у подсвинков на откорме, что значительно увеличивает экономический ущерб.

При этом отмечается зависимость ухудшения эпизоотической ситуации в связи с плохой подготовкой помещений к зимнему периоду (в первую очередь, утепление окон в секторах), с применением живых вакцин в этих хозяйствах (противосальмонеллезных, противорожистых, противочумных) и использованием некачественных кормов.

АПП зарегистрировано впервые в Республике Беларусь в 1987 году в совхозе «Городокский» Городокского района. Сейчас это заболевание регистрируется часто, и нашими исследованиями подтвержден диагноз в ряде хозяйств: колхоз «Антоновский» Чаусского района, племязавод «Индустрия» Пуховичского района, колхоз «Советская Белоруссия» Речицкого района, КУСП «Южное» Пинского района, РУСП «Беловежский» Каменецкого района, ЗАО «Гудевичи» Мостовского района, АК «Снов» Несвижского района и др.

Наиболее вероятный путь заноса возбудителя в ранее благополучные хозяйства — это ввоз живот-

ных-бактерионосителей. Именно бактерионосительство взрослых свиней поддерживает стационарность актинобациллярной плевропневмонии. Постоянное пополнение секторов восприимчивыми животными поддерживает заболеваемость на определенном уровне (по нашим наблюдениям - до 30%). По данным ряда исследователей (М.А. Сидоров, Д.И. Скородумов, 1986 и др.), носительство актинобацилл свиноматками в благополучных хозяйствах не превышает 20%, а в неблагополучных - колеблется в пределах 43-70% [5].

Возбудитель актинобациллярной плевропневмонии - ДПН-зависимые бактерии *Actinobacillus pleuropneumoniae*, относящиеся к семейству *Pasteurellaceae*. Он требователен к составу питательных сред и для своего роста нуждается в добавлении сыворотки и дифосфопиридиннуклеотида (ДПН). ДПН или V-фактор - это фермент, участвующий в клеточном дыхании бактерий, который у актинобацилл отсутствует. Его источником служит дрожжевой экстракт, химически чистый ДПН, ткани и кровь животных.

При серологической идентификации актинобацилл установлено 15 серовариантов данного возбудителя. Пять из них (1, 5, 9, 10, 11) обладают большей вирулентностью.

О наличии плевропневмонии в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь имеются единичные сообщения [1, 2]. Такие вопросы, как степень распространения этой болезни, интенсивность инфекционного процесса, этиология и серотиповой состав возбудителя пневмонии, остаются не выясненными. Кроме того, неотложного решения требуют вопросы разработки средств профилактики и мер борьбы с этой болезнью.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в отделе бактериальных инфекций, отделе болезней свиней и виварии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Выделение и идентификацию возбудителя проводили в соответствии с «Методическими указаниями по лабораторной диагностике актинобациллярной плевропневмонии свиней» (2008).

Изучение патогенных свойств двух штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae* (КМИЭВ-В 141) и (КМИЭВ-В 142) проводили на белых мышах путем внутрибрюшинного введения 5 белым мышам массой 14-16 грамм по 0,4 см³ смыва агаровой бактериальной 16-18-часовой культуры в конечной концентрации 40 млн микробных клеток в 1 см³. За животными вели наблюдение в течение 6 дней.

Определение степени вирулентности штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae* (КМИЭВ-В 141, КМИЭВ-В 142) проводили также на белых мышах. Для этого были подобраны 10 групп белых мышей живой массой 16-18 г по 4 мыши в каждой группе. Животных заражали внутрибрюшинно суточной бульонной культурой по 0,5 см³ в двоичных разведениях. Срок наблюдения - 6 суток.

При этом установили LD₅₀ и LD₁₀₀ у этих вакцинных культур.

Из штаммов актинобацилл (КМИЭВ-В141), (КМИЭВ-В142) приготовлено 2 биопрепарата на основе бульонных культур, которые были инактивированы формалином в конечной концентрации 0,5% и эмульгированы с масляным адъювантом ISA-206 (Монтанид).

Стерильность образцов вакцин проверяли путем посева на питательные среды (МПА, МПБ, среды Сабуро и Китта-Тароцци). Безвредность их определили после подкожного введения 2 образцов вакцины дополнительной группе мышей подкожно в дозе 0,4 см³.

Определение иммунной активности штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae* (КМИЭВ-В 141), (КМИЭВ-В142) проводили на белых мышах живой массой 14-16 г.

Для этого из 50 белых мышей живой массой 16-18 г по принципу аналогов сформировали 5 групп (2 опытные и 3 контрольные) по 10 животных в каждой. Всех мышей двукратно иммунизировали подкожно в дозах 0,3+0,4 см³ с интервалом 7 дней.

Напряженность иммунитета определяли через 10 дней после повторной иммунизации путем подкожного заражения животных 18-часовой бульонной культурой в дозе 2LD₅₀. Опытных животных 1 группы заражали культурой КМИЭВ-В141, 2-й группы - культурой КМИЭВ-В142, 1-ю контрольную группу - штаммом КМИЭВ-В141, 2-ю контрольную - штаммом КМИЭВ-В142. Животным 3-й контрольной группы вводили физиологический раствор по той же схеме. За животными вели наблюдение в течение 10 дней.

При определении антигенных свойств вакцины биопрепарат в объеме 3 см³ вводили трем кроликам массой 1,5-2,0 кг в бедренные мышцы с двух сторон по 1,5 см³. Через 14 суток у кроликов отбирали пробы крови для получения сывороток крови, которые использовали при постановке РА.

Для РА готовили антигены штаммов актинобацилл, входящих в состав вакцины. С этой целью вносили микробные клетки *Actinobacillus pleuropneumoniae* в пробирки с сывороточно-дрожжевым агаром Хоттингера с добавлением НАД (ДПН) и выдерживали в термостате в течение суток. Затем бактерии смывали стерильным 0,85%-ным раствором натрия хлорида, доводяли концентрацию до 10 ед. МОС в 1 см³ раствора.

Формалин добавляли в концентрации 0,5% и выдерживали в термостате в течение 3 суток для инактивации микробных клеток. Полученные взвеси бактерий использовали в качестве антигена в РА.

Постановку РА осуществляли микрометодом в полимерных планшетах для иммунологических реакций с лунками U-образной формы. В лунки вначале вносили по 0,025 см³ 0,85%-ного раствора натрия хлорида. Затем в первый ряд добавляли сыворотки крови кроликов по 0,025 см³ и делали разведения сывороток от 1:2 до 1:2048. Во все лунки с разведенной сывороткой вносили актинобациллярные антигены *Actinobacillus pleuropneumoniae* (КМИЭВ-В141, КМИЭВ-В142).

После внесения во все используемые лунки антигена планшет тщательно перемешивали, плавно покачивая, закрывали крышкой и оставляли при комнатной температуре плюс (20±3,0)°С в течение 24 ч.

В случае положительного результата в лунке панели агглютинированные микробные клетки образовывали «зонтик», что указывало на положительный результат в лунке с соответствующим разведением испытуемой сыворотки. Если результат отрицательный, то микробные клетки оседали на дно лунки в виде «пуговки», т.е. плотного осадка. Просмотр панелей проводили в проходящем свете от осветителя, используя увеличительную лупу.

Результаты исследований. В период с 1999 по 2016 год проведенными бактериологическими исследованиями патматериала от 386 больных и павших поросят-отъемышей из 82 свиноводческих хозяйств установлен спектр возбудителей бактериальных инфекций при пневмониях. При этом выделено 193 патогенных культуры, которые были идентифицированы в 31,6% случаях как штаммы *Pasteurella multocida*, в 16,1% – *Actinobacillus pleuropneumoniae*, в 10,9% – *Salmonella cholerae suis*, в 16,6% – *Streptococcus suis*, в 9,3% – как *Haemophilus parasuis* и др.

При этом выделяемость актинобацилл по годам колебалась в пределах 11-19%.

Данные по определению патогенных свойств 2 штаммов актинобацилл на белых мышах представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, летальная доза LD₅₀ для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В141 составила 62,5 млн м.к., для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В142 – 31,25 млн м.к. на голову. Летальная доза LD₁₀₀ для обоих штаммов была равна 125 млн м.к.

Образец инактивированной и эмульгированной вакцины, изготовленный из этих штаммов, был стерильным и безвредным. На питательных средах роста микроорганизмов не наблюдалось. Мыши оставались живыми и подвижными в течение 10 дней наблюдения.

При изучении иммуногенных свойств образца вакцины на белых мышах получены положительные результаты. Они оказались активными. Данные по активности биопрепаратов представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Определение патогенных свойств для штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae* (КМИЭВ –В 141, КМИЭВ-В 142)

№	Кол-во м.к. на 1 животное	Доза (см ³)	Кол-во жив-х	КМИЭВ-В141		КМИЭВ-В142	
				Выжило	Пало	Выжило	Пало
1	1,0 млрд	0,5	4	0	4	0	4
2	500 млн	0,5	4	0	4	0	4
3	250 млн	0,5	4	0	4	0	4
4	125 млн	0,5	4	0	4	0	4
5	62,5 млн	0,5	4	2	2	1	3
6	31,25 млн	0,5	4	3	1	2	2
7	15,63 млн	0,5	4	4	0	3	1
8	7,81 млн	0,5	4	4	0	4	0
9	3,91 млн	0,5	4	4	0	4	0
10	1,95 млн	0,5	4	4	0	4	0

Таблица 2 - Иммунная активность 2 образцов вакцин, изготовленных из штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Группы животных (использован штамм)	Кол-во животных		Иммунная активность, %
	павших	выживших	
1-я опытная (штамм КМИЭВ–В141)	1	9	90
2-я опытная (штамм КМИЭВ-В142)	1	9	90
1-я контрольная (штамм КМИЭВ–В141)	10	0	-
2-я контрольная (штамм КМИЭВ-В142)	10	0	-
3-я контрольная (физиологический раствор)	0	10	-

В опытных группах № 1 и 2 сохранность белых мышей была достаточно высокой и иммунная активность соответственно составила 90%. В контрольных группах № 1 и № 2 отмечали гибель всех инфицированных животных. В то же время в контрольной группе № 3 (мыши не инфицировались) все остались живы.

При изучении антигенных свойств вакцины установлено, что для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В141 титр специфических антител составил 1:256-1:512, а для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В142 титр был в пределах 1:512 - 1:1024.

Заключение. 1. Штаммы *Actinobacillus pleuropneumoniae* были патогенными для белых мышей. Степень вирулентности для штамма КМИЭВ–В141 составляла 62,5 млн м.к., штамма КМИЭВ–В142 – 31,25 млн м.к. на голову.

2. Иммунная активность биопрепаратов, изготовленных из этих штаммов, составила 90%.

3. Введение вакцины кроликам вызывает рост титра специфических антител в РА для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В141 до 1:512, а для штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* КМИЭВ–В142 - до 1:1024.

Литература. 1. Андросик, Н. Н. Диагностика, профилактика и меры борьбы с гемофилезами свиней : методические рекомендации / Н. Н. Андросик. - Минск. - 16 с. 2. Андросик, Н. Н. Профилактика пневмонии свиней / Н. Н. Андросик. - Минск: Ураджай, 1989. -159 с. 3. Панасенко, А. С. Экономический ущерб от респираторных болезней свиней / А. С. Панасенко // Ветеринария : Межвед. сб. - Киев. - 1975, Вып. 42. - С. 50-64. 4. Притулин, П. И. Профилактика заболе-

ваний свиней в специализированных хозяйствах / П. И. Притулин // Ветеринария. - М. : Колос. - 1970. - N 2. - С. 4-7. 5. Сидоров, М. А. Гемофилезы животных / М. А. Сидоров, Д. И. Скородумов. - М. : Агропромиздат, 1986. 6. Сидоров, М. А. Специфическая профилактика гемофилезной плевропневмонии свиней / М. А. Сидоров // Ветеринарные проблемы пром. свиноводства. - Киев. - 1983. - N 4. - С. 102-106. 7. Christensen, G. Pleuropneumoniae hos svin fremkaldt af Haemophilus leuropneumoniae parahaemoliticus / G. Christensen // Nend. Veter.-Med. - 1981. - Bd.33, N3. - S. 121-33. 8. Amano, H. Serotype and drug susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae isolated from the nasal cavities of clinically healthy pigs / H. Amano, N. Kajio, M. Shibata // J. Japan Veter. Med. Assn. - 1989. - Vol.8, N3. - P. 179-183.

Статья передана в печать 20.12.2016 г.

УДК 636.5.087.72

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ТЕЛЯТ ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН МИНЕРАЛЬНОЙ ДОБАВКИ ИЗ МЕСТНОГО СЫРЬЯ

Базылев М.В., Щебеток И.В., Железко А.Ф., Брикет А.А.

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

*Введение в рацион телят на доращивании минеральной добавки «Пикумин» позволяет повысить уровень бактерицидной активности сыворотки крови животных на 11,2% ($P<0,05$) и содержание гемоглобина - на 17,6 г/л ($P<0,01$), что способствует снижению заболеваемости на 1,6%, повышению сохранности - на 11,0% и увеличению среднесуточных приростов массы - на 9,9% ($P<0,05$). **Ключевые слова:** телята, пикумин, резистентность, продуктивность.*

THE RESISTANCE AND PRODUCTIVITY OF CALVES WITH THE INTRODUCTION IN THE DIET OF MINERAL ADDITIVES FROM LOCAL RAW MATERIALS

Bazylev M.V., Sebeok I.V., Gelezco A.F., Briquette A.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Introduction in the diet of calves in the rearing of mineral supplements pikemen can increase the level of bactericidal activity of blood serum of animals by 11,2% ($P<0,05$) and hemoglobin 17,6 g/l ($P<0,01$), thereby reducing the incidence of 1,6%, increase the safety of 11,0% and increase average daily gains mass by 9,9% ($P<0,05$). **Keywords:** calves, pikmin, resistance, productivity.*

Введение. Современные задачи, стоящие перед агропромышленным комплексом Республики Беларусь, предусматривают дальнейшее повышение объемов производства животноводческой продукции и увеличение ее экспорта, значительная роль при этом отводится мясному скотоводству.

Современные технологии выращивания и откорма молодняка крупного рогатого скота связаны с размещением животных на ограниченных площадях и однообразным, преимущественно концентратным, типом кормления. В этих условиях организм животных особенно требователен к условиям содержания и кормления. Неполноценность рационов, использование кормов низкого качества непременно приводит к снижению жизнеспособности, продуктивности животных и их непроизводительному выбытию. Особенно при этом страдает молодняк. Основу профилактических зоогигиенических мероприятий, направленных на повышение продуктивности и сохранности молодняка, по мнению большинства ученых и практиков, должен составлять принцип повышения естественной резистентности организма [1, 4, 8].

Несмотря на повсеместное использование комбикормов, в рационах молодняка крупного рогатого скота нередко отмечается недостаток биологически активных веществ, в том числе макро- и микроэлементов, что приводит к обменным патологиям и, как следствие, значительным экономическим потерям. Отчасти это обусловлено пониженным содержанием жизненно необходимых для организма элементов в почвах республики. Решается проблема минерального дефицита путем введения в рацион кормления минеральных добавок. Учитывая то, что большинство из применяемых в скотоводческих хозяйствах республики добавок имеют высокую стоимость, ряд исследователей указывают на возможность эффективного использования с этой целью сапропеля, древесного угля, торфа, глины, трепела и другого недорогого местного природного сырья. Однако, несмотря на многочисленные публикации, использование минеральных добавок из местного природного сырья в рационах крупного рогатого скота, как в республике, так и за ее пределами широкого распространения не получило, и их следует признать нетрадиционными. Целью наших исследований было повышение резистентности и продуктивности молодняка крупного рогатого скота путем применения продукта обжига красной глины - пикумина [6, 7].

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях участка доращивания МТК «Гребенка» СПФ «Агрострой» Червенского района Минской области. Материалом для исследований служили животноводческие помещения, их воздушная среда, телята с двух- до шестимесячного возраста, клинико-физиологическое состояние, кровь, прирост живой массы, сохранность и заболеваемость животных, корма, а также минеральная добавка «Пикумин». В опытные и контрольную группы, исходя из технологии, принятой в хозяйстве, по принципу аналогов подбирали клинически здоровых животных, которые под-