

В процессе хранения мяса от животных больных фасциолёзом происходят изменения физико-химических показателей. Так, реакция среды изменяется в щелочную сторону: опытная группа $6,21 \pm 0,07$, контрольная группа $5,84 \pm 0,03$. Реакция на пероксидазу в одном случае отрицательная и в двух – сомнительная. Это говорит о том, что в мясе снижается активность тканевых ферментов. В контрольной группе во всех случаях реакция на пероксидазу была положительной. Реакции с сернокислой медью и с формалином в двух пробах опытной группы были положительными, а в контроле только отрицательными. Следовательно, в материале зараженных животных выявляются продукты первичного распада белков. Биохимические процессы, происходящие при созревании в мясе больных фасциолёзом овец, отличаются от таковых в мясе здоровых животных.

Химический состав мышечной ткани является одним из важнейших показателей, который характеризует пищевые достоинства мяса. Нами были определены основные компоненты мяса: влага, жир, белок, зола. Проведенные нами исследования показали, что в мясе больных животных достоверно увеличивается содержание влаги на 2,7%, снижается содержание белка на 7,2% и жира – 21%.

Показатели биологической ценности мяса и печени от здоровых животных соответствуют норме и составляют 100 % во всех случаях. Несколько ниже был показатель относительной биологической ценности мяса в пробах от больных животных – $99,2 \pm 0,8$ %, что согласуется с результатами физико-химических исследований (повышенное содержание влаги при одновременном снижении содержания белка и жира). Очень низкие показатели относительной биологической ценности были зафиксированы в пробах печеночной ткани от животных с поражениями печени – $78,0 \pm 0,87$ %. Это объясняется тем, что часть паренхимы печени в результате переболевания фасциолёзом была замещена элементами соединительной ткани. Помимо этого, большинство образцов печени обладает умеренной токсичностью, что выразилось в снижении количества инфузорий в культивируемых субстратах в среднем на 20 %. Помимо снижения общего числа тест-объектов Тетрахимена пириформис, было выявлено наличие 10 – 15 % инфузорий с нарушением характера движения, что также свидетельствует об умеренной токсичности продукта.

Заключение. Молоко, полученное от животных больных фасциолёзом, содержит меньше белка, жира, имеет пониженную кислотность. При фасциолёзе содержание аминокислот в белке молока различно в сравнении с молоком от здоровых животных.

Яйца фасциол у мелкого рогатого скота обнаруживаются в ноябре-январе. Но наивысшая экстенсивность инвазии с середины декабря и до начала января.

По органолептическим показателям мясо от здоровых животных и от овец, больных фасциолёзом практически не различалось. В то же время, при проведении пробы варкой, бульон из мяса от животных с поражениями печени отличался мутностью, не ярко выраженным ароматом и специфическим видом жировых капель на его поверхности.

При определении физико-химических и биологических показателей мяса установлено, что мясо от больных животных уступает мясу от здоровых овец по показателям pH, содержанию в мышечной ткани белка и жира. Кроме того, мясо и печень от таких животных обладает более низкими показателями относительной биологической ценности, а печень в умеренной степени обладает токсичностью для инфузорий.

Литература. 1. Горбатова, К. К. Биохимия молока и молочных продуктов / К. К. Горбатова. – 3-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2004. – 320 с. 2. Горбатова, К. К. Химия и физика молока: учебник для вузов / К. К. Горбатова. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 288 с. 3. Колоболотский, Г. В. Справочник по ветеринарно-санитарной экспертизе продуктов на мясомолочных и пищевых контрольных станциях / Г. В. Колоболотский. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: «Колос», 1974. – 240 с. 4. О проблеме фасциолёза жвачных / А. И. Ятусевич [и др.] // Ученые записки: [сборник научных трудов]: научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2010. - Т.46, вып.2. – С. 214-218. 5. Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных / Л. П. Дьяконов [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1985. – 383 с. 6. Проблема фасциолёза и меры борьбы с ним / А. И. Ятусевич [и др.] // Ученые записки: [сборник научных трудов]: научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2005. - Т.41, вып.1. – С. 57-61. 7. Холод, В. М. Клиническая биохимия: учебное пособие / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Ч.1. – 188 с. 8. Ятусевич, А. И. Адаптационные процессы и паразитозы животных: монография / А. И. Ятусевич, Н. С. Мотузко, В. А. Самсонович, И. А. Ятусевич, Е. Л. Братушкина. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 404 с.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98:578.831.3:615.37.636.4

ПОЛУЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ СЫВОРОТКИ ГИПЕРИММУННОЙ ПРОТИВ ПНЕВМОНИИ СВИНЕЙ, СОДЕРЖАЩЕЙ АНТИТЕЛА К PASTEURELLA MULTOCIDA СЕРОТИПОВ А, В, D и BORDETELLA BRONCHISEPTICA

Вербицкий А.А.

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

В статье автором изложена информация по получению препарата для пассивной иммунизации и лечения пневмоний у свиней пастереллезной и (или) бордетеллезной этиологии. Также описаны методы заключительного контроля на разработанный биопрепарат.

The article features the research data on a hyperimmune serum against pasteurilla and (or) bordetella infection for prevention and treatment of respiratory diseases in swine. The methods for final control of the compound are described.

Введение. Эффективность развития свиноводства в значительной мере зависит от эпизоотической ситуации по инфекционным болезням, особенно вызываемым условно-патогенной микрофлорой. Анализ заболеваемости свиней в странах Европы и Америки за последние годы показывает, что на долю болезней

органов дыхания приходится 35–40% [3]. По Республике Беларусь заболеваемость пневмониями составляет 15–42%, а смертность – 7–14%.

По происхождению и клинико-морфологическому проявлению пневмонии весьма разнообразны. У свиней они, как правило, регистрируются в послестъемный период и чаще бактериальной этиологии. При анализе спектра возбудителей бактериальных пневмоний по результатам бактериологических исследований патматериала, возбудитель бордетеллеза выделяется в 5–30% случаев. Наряду с бордетеллезом, в 15–40% случаев выделяется возбудитель пастереллеза [8]. По периоду возрастной восприимчивости болезни вызываемые указанными возбудителями совпадают.

Бордетеллез – инфекционное заболевание свиней всех возрастов (чаще в возрасте от 2 недель до 4 месяцев), характеризующееся развитием катарально-гнойной пневмонии, сопровождающееся лихорадкой ремитирующего типа, сухим кашлем, чиханием, отставанием в росте и развитии. Пастереллез в свою очередь, характеризуется при остром течении признаками септицемии и крупозным воспалением легких, при подостром и хроническом течении – гнойно-некротизирующей пневмонией и плевритом, реже перикардитом. При сочетанной инфекции возбудителей пастереллеза и бордетеллезной инфекции развивается атрофический ринит, который является одной из форм позднего проявления этих инфекций [2].

Бордетеллез и пастереллез чаще выявляют у поросят отъемного периода, однако регистрируется и у откормочного поголовья как переходящая из одного производственного цеха в другой инфекция. В настоящее время тенденция сводится к тому, что чаще обе инфекции протекают в подострой и хронической формах с непроизводительным отходом свиней до 30%. При этом выделяемость пастерелл находится на уровне 12–28%, а бордетелл – 5–18%.

На основании антигенных различий капсульных полисахаридов *Pasteurella multocida* у свиней установлено 3 серовара (A, B, D). *P. multocida* серовара B является возбудителем септического пастереллеза у свиней. *P. multocida* серовара D (токсигенная) обуславливает пневмонии и атрофический ринит свиней наряду с *Bordetella bronchiseptica*, серовар A – пневмонии. Бордетелла, выделяет термолabile экзотоксин (ТЛЭ, цитотоксин), высвобождающийся при лизисе бактерий, который вызывает атрофию раковин и создает условия для размножения *P. multocida*. Имеется у бордетелл и термостабильный токсин (ТСЭ), представляющий собой мукополисахарид. Различают также термочувствительную группы соматических O-антигенов и термоустойчивую K-антигенов [2, 7].

B. bronchiseptica является первичным легочным патогеном для поросят (до 4-недельного возраста) и второстепенным патогеном для поросят в период дорастивания и откорма. Она повышает чувствительность поросят к другим респираторным патогенам [5].

Обе инфекции поражают молодняк, что ведет к снижению прибыли за счет увеличения смертности, дополнительных затрат на корма и антибиотики, снижения привесов. Взрослые животные являются носителями и поддерживают стационарность.

Эти болезни относят к факторным инфекциям. Нарушение норм кормления и содержания способствуют снижению естественной резистентности животных, что ведет к распространению инфекции и усилению интенсивности ее течения.

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 для организма животных, так и людей, употребляющих в пищу мясо от этих животных, что обуславливает необходимость создания гипериммунной сыворотки [4].

В этой связи целью нашей работы явилось получение высокоэффективного биологического препарата для лечения и пассивной профилактики инфекционных пневмоний свиней, вызываемых ассоциацией пастерелл и бордетелл, что на наш взгляд является достаточно актуальным.

Материалы и методы исследований. Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» и УП «Витебская биофабрика».

Для разработки сыворотки использовали штаммы пастерелл и бордетелл, выделенные от поросят, доминирующие в республике и отвечающие требованиям к штаммам используемых для получения биологических препаратов [1,6].

Получение гипериммунной сыворотки представляет собой сложный и поэтапный процесс. Вначале отобрали шолов, будущих продуцентов препарата. На следующем этапе мы сконструировали антиген, в который входили штаммы *Pasteurella multocida* серотипов A, B, D и *Bordetella bronchiseptica*.

На начальном этапе изготавливали поливалентный антиген путем выращивания бактериальных культур, проверки их свойств, составления антигена, его инактивации и концентрирования.

С этой целью штаммы *P. multocida* серотипов A, B, D и *B. bronchiseptica*, прошедшие контроль и соответствующие паспортным данным, первоначально культивировали при $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 18–20 часов во флаконах объемом 100 см^3 , содержащей $30\text{--}50 \text{ см}^3$ модифицированной питательной среды.

Проверку выросшей культуры первой генерации на чистоту роста проводили путем микроскопирования окрашенных по Граму мазков, определения ее культуральных свойств на МПА в чашки Петри, определения ферментативных свойств на коротком цветном ряде (глюкоза, сахароза, маннит, лактоза и мальтоза), включая установление образования индола и расщепления мочевины.

Проверенные таким образом культуры из флакона засеивали каждую в отдельности в 20-ти литровые баллоны, наполненные не более чем на одну треть объема модифицированной питательной средой. Культивирование культуры второй генерации проводили $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 20–24 часов. Полученную матровую расплодку проверяли на чистоту роста макроскопически и путем микроскопирования окрашенных по Граму мазков, после чего определяли концентрацию микробных клеток.

Инактивацию полученных культур проводили после смешивания в одной емкости в равных соотношениях *P. multocida* серотипов A, B, D и *B. bronchiseptica* 0,3%-ным раствором формалина (содержание формальдегида не менее 36%) в течение 10–14 суток при $36\text{--}38^\circ\text{C}$.

Инактивированную культуру концентрировали путем сорбции на гидроксид алюминия, добавляемого к культуре в виде 4%-ного раствора в количестве до получения его конечного содержания 0,4%.

Сорбцию поливалентного антигена проводили в течение 3-х суток при 20°C. После сорбции и отстоя готовый антиген концентрировали до содержания 8 млрд. микробных клеток в 1 см³ путем декантации надосадочной жидкости.

Стерильность сконструированного антигена проверяли контрольным посевом в течение 10 суток на средах МПА, МПБ, Китта-Тароцци при температуре 37±1°C и агаре Сабуро при температуре 22±1°C. По отсутствию роста грибковой и бактериальной микрофлоры устанавливали стерильность полученного антигена.

Безвредность сконструированного антигена определяли в опыте *in vivo* на 5 белых мышах путем подкожного введения антигена в объеме 0,5 см³ на голову с последующим наблюдением в течение 10 суток. О безвредности антигена судили по отсутствию заболевания и падежа лабораторных животных.

Величину pH полученного антигена определяли после трехкратного исследования его значения с помощью pH-метра. Показатель pH в значениях от 7,0 до 7,6 свидетельствует о безвредности антигена.

Гипериммунизацию волов-продуцентов проводили путем четырехкратного внутривентриального введения антигена в количествах 5 см³, 10 см³, 15 см³ и 20 см³ соответственно с интервалом между инъекциями 5 суток.

Отбор и переработку крови проводили через 10 суток после последней инъекции антигена в количестве 16 см³ на кг живой массы вола. Стабилизированную кровь собирали в общую емкость и подвергали сепарации с целью отделения форменных элементов крови и получения высокого выхода плазмы. Промежуточный контроль сыворотки после сепарации осуществляли по определению концентрации фенола, кальция, белка и уровня pH.

Получение сыворотки проводили путем дефибрирования плазмы в дефибринаторе при работающей мешалке с добавлением 30%-ного раствора хлористого кальция в течение 30 минут.

Полученную сыворотку консервировали путем добавления 5%-ного раствора фенола до получения его конечной концентрации в сыворотке не более 0,5%.

Далее готовую сыворотку подвергали отстою в отстойниках на протяжении 40 суток при температуре +2+15°C. По истечении срока отстоя сыворотку осветляли и фильтровали с помощью картонных фильтров «Т», «КФО-1» и «КФМ». Затем полученный препарат мы подвергали стерильной фильтрации с помощью фильтрационной установки PALL и фасовали в стерильные флаконы объемом 200 см³, укупоривали резиновыми пробками, закатывали металлическими колпачками.

Заключительный контроль опытной серии полученной сыворотки проводили в ОКК УП «Витебская биофабрика» на безвредность, стерильность и иммунную активность.

Для определения безвредности использовали 5 белых мышей массой 16-18 г., полученных из вивария УП «Витебская биофабрика», благополучного по инфекционным заболеваниям. Подопытных животных содержали в металлической клетке, ежедневно они получали зерно и воду.

Для испытания использовали 3 флакона сыворотки из опытной партии. Из каждого флакона отбирали в один стерильный флакон по 20 см³ сыворотки для получения объединенной пробы. Смесь сыворотки вводили подкожно в области спины мышам в дозе 0,5 см³, после обработки места инъекции тампоном, смоченным 70% спиртом. Наблюдение за подопытными животными вели в течение 10 суток.

Изучение активности (специфичности) препарата. Метод заключался в определении профилактических свойств препарата после иммунизации белых мышей, и последующего их заражения патогенными культурами пастерелл и бордетелл. От объединенной пробы отбирали 10 см³ испытуемой сыворотки. Для испытания иммунной активности использовали 24 белые мыши массой 16-18 г. На каждую разновидность пастерелл и штамм бордетеллы брали по 3 животных, которым сыворотку вводили подкожно в дозе по 0,2 см³ в смеси с 0,3 см³ стерильного физиологического раствора, общим объемом 0,5 см³ в разные точки.

Через 24 часа иммунизированных животных и трех контрольных мышей в каждой группе заражали 3-5 ЛД₅₀ контрольных штаммов пастерелл и бордетеллы. За зараженными животными вели наблюдение в течение 10 суток.

Для изучения стерильности использовали МПА, МПБ, агар Сабуро и среду Китта-Тароцци по две пробирки каждой среды.

Для проведения испытания использовали 3 флакона из опытной партии сыворотки. Из каждого флакона засеивали в количестве по 0,2 см³ в пробирки с МПА, МПБ, агаром Сабуро и средой Китта-Тароцци и по 2 см³ во флаконы с МПБ и средой Китта-Тароцци. Посевы проводили из каждого флакона испытуемой сыворотки в 2 пробирки и в 2 флакона с каждой средой. Через двое суток из флаконов с МПБ проводили пересев в указанном выше объеме в 2 пробирки с МПА, а во флаконы с МПБ.

Посевы на агаре Сабуро выдерживали в термостате при температуре 20-22°C, а на остальных средах - при температуре 37±1°C в течение 10 суток.

Вторичные посевы на питательных средах выдерживали в течение 8 суток.

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, бордетеллагира, казеиново-угольного агара через 24 часа образовывались полупрозрачные, росинчатые, 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, образуют индол, не расщепляют мочевину. *Bordetella bronchiseptica* не ферментировала сахара и многоатомные спирты, расщепляла мочевину, образовывала сероводород, не образовала индол, росла на среде Симмонса, редуцировала нитраты и давала положительную пробу на каталазу.

LD₅₀ для белых мышей массой 14-16г. *Pasterella multocida* серотипов А и D составляла 60 микробных клеток при подкожном введении, а для *Pasterella multocida* серотипа В – 20 микробных клеток. Штамм *Bordetella bronchiseptica* обладал вирулентными свойствами, LD₅₀ для белых мышей массой 14-16г. составляло 100 микробных клеток при подкожном введении.

Готовый инактивированный антиген был признан безвредным, т.к. в течение 10 суток мыши оставались живыми и клинически здоровыми.

Величину рН измеряли с помощью рН-метра трижды и подсчитали среднее арифметическое значение, которое составило – 7,3.

Полиантиген признали стерильным, потому что после высева на питательные среды, рост микроорганизмов и грибов отсутствовал в течение 10 суток.

После гипериммунизации волов-производителей, взятия крови, получения из нее сыворотки, последующего отстоя и фильтрации мы получили опытную серию биопрепарата, который подвергли контролю в ОКК УП «Витебская биофабрика». При этом установили, что полученная сыворотка была:

- безвредной, т.к. в течение 10 суток животные оставались живыми и клинически здоровыми, а на месте введения препарата отека не наблюдалось.

- активной (специфичной), т.к. за период наблюдения за опытными (зараженными) животными все белые мыши выжили, в контрольной группе, где животных не иммунизировали все мыши погибли в течение 3-х суток.

- стерильной, т.к. в течение 10 суток рост микроорганизмов на питательных средах отсутствовал.

Заключение. В ходе экспериментальной работы мы получили опытную серию препарата «Гипериммунная сыворотка против пневмонии свиней, содержащая антитела к *P. multocida* серотипов А, В, D и *B. bronchiseptica*». Предложенные методы контроля показали, что опытная сыворотка оказалась безвредной, активной и стерильной.

Литература. 1. Иммуногенные свойства штаммов *Pasteurella multocida* / В.В. Каширин // *Ветеринария*. -1995. - №10. – С. 25 – 29. 2. Кожевников, С.В. Бордетеллез свиней / С.В. Кожевников, Р.В. Душук, Н.Т. Татаринцев. – М.: ВНИИТЭИ агропром, 1990. – 40 с. 3. Лях, Ю.Г. Пастереллез свиней на территории Республики Беларусь: автореф. ... дис. док. вет. наук / Ю.Г. Лях; РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси» - Мн., 2003. – 36 с. 4. Медведев, А.П. Проблемы производства противобактериальных биопрепаратов для пассивной профилактики и лечения животных. /А.П. Медведев, А.А.Вербицкий, С.В. Даровских // *Ученые записки: научно-практический журнал Витеб. госуд. академия ветер. медицины*. - Витебск, 2006. -Т.42. ч.2- с.37-40. 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 ВНИИЗВ 16-17 мая 2006 года Москва*. – Москва : Издательство, 2006. – С. 135–138. 6. Положение о паспортизации и депонировании штаммов микроорганизмов / А.П. Лысенко [и др.]; Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси. – Минск, 2006. – 28 с. 7. Справочник по бактериологическим методам исследований в ветеринарии. Сост. А.Э.Высоцкий, З.Н.Барановская. – Минск: Белтаможсервис, 2008. – С. 509-515, 596-655. 8. Эпизоотическая ситуация и прогноз по пастереллезу свиней в Республике Беларусь / Ю.Г. Лях // *Ветеринарная патология*. – 2003. - №1. – С. 137 – 139.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:[614.48+615.28]

СТАБИЛЬНОСТЬ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ

Высоцкий А.Э.

ГВСУ «Минская областная ветеринарная лаборатория»

Фомченко И.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»

Рабочие растворы дезинфектантов Virkocid, КДП, Белопэг, Витмол, Витан не уменьшают уровень антимикробной активности в отношении культур E. coli ATCC 25922 и Staphylococcus aureus ATCC 6538 в течение 16 суток хранения при температуре 18-20°C, экспозиции 5 и 10 минут. Рабочие растворы Нависана-вет, Сандима-Д и Белстерила не уменьшает уровень антимикробной активности в отношении тех же культур в течение 4 суток хранения при температуре 18-20°C, экспозиции 5 и 10 минут.

The Worker solutions dezinfektant Virkocid, KDP, Belopag, Vitmol, Vitan do not reduce the level an antimicrob to activities in respect of cultures E soli ATSS 25922 and Staphylococcus aureus ATSS 6538 during 16 day of keeping at the temperature 18-200C, exposures 5 and 10 minutes. The Worker solutions is Navisan-vet, Sandima-D and Belsterila does not reduce the level an antimicrob to activities in respect of the same cultures during 4 day of keeping at the temperature 18-200C, exposures 5 and 10 minutes.