

В период второго возрастного иммунодефицита препараты оказали корректирующий эффект, обеспечив стабильность количественных показателей нормофлоры, в то время как у животных без их применения в эти сроки происходило снижение содержания бифидо- и лактобактерий с одновременным нарастанием эшерихий.

Наилучший эффект при целенаправленном становлении кишечного нормобиоза у телят оказывает применение пробиотика «Бифидофлорин жидкий» с пребиотиком «Биофон АИЛ» в комбинации.

Литература. 1. Красноголовец, В.Н. Дисбактериоз кишечника / В.Н. Красноголовец. - М.: Медицина. 1989. - 208 с. 2. Кондрахин, И.П. Диспепсия новорожденных телят – успехи и проблемы / И.П. Кондрахин // Ветеринария. – 2003. - №1. – С. 39-43. 3. Нормальная микрофлора животных и ее коррекция пробиотиками / М.А. Сидоров [и др.] // Ветеринария. – 2000. - №11. – С. 17-21. 4. Нормобиоценоз и дисбактериоз молодняка / Г.Ф. Бовкун [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. - №3. – С. 12-17. 5. Пивняк, И.Г. Микробиология пищеварения жвачных / И.Г. Пивняк, Б.В. Тараканов. – Москва, 1982. – С. 231-233. 6. Сидоров, М.А. Основы профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных животных / М.А. Сидоров, В.В. Субботин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. - №3. – С. 8-12. 7. Тараканов, Б.В. Использование микробных препаратов и продуктов микробиологического синтеза в животноводстве / Б.В. Тараканов. – М.: 1987. – 48 с. 8. Тараканов, Б.В. Новые биопрепараты в ветеринарии / Б.В. Тараканов, Т.А. Николочева // Ветеринария. – 2000. - № 7. – С. 45-50. 9. Kumprecht, I. The effect of mannan-oligosaccharides and *Enterococcus faecium* M-74 bacteria in diets with different protein levels on broiler performance / I. Kumprecht., P. Zobac // Czech. J. anim. Sc. – 1999. – Vol. 44, №2. – P. 73-80.

УДК 619:616.98:579 843.95:615.371.636.4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ПОРОСЯТ, ПРИВИТЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.

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

Статья включает данные о поствакцинальном иммунитете после использования экспериментальной инактивированной вакцины против пастереллеза свиней в различных дозах.

The article contains the data on post vaccination immunity after the use of the experimental batch of killed vaccine against porcine pasteurellosis according to various doses.

Введение. Удовлетворение потребности населения продуктами животного происхождения, а промышленности сырьем, возможно лишь в случае интенсивного ведения животноводства. Свиноводство является одной из наиболее рентабельных отраслей животноводства в Республике Беларусь, где преобладают крупные свиноводческие комплексы с оборотом стада в 24 тыс. и 108 тыс. голов в год. Такое крупное скопление животных на ограниченной территории ведет к риску возникновения заболеваний, которые при этом наносят значительный экономический ущерб. Ведущее место среди заболеваний отводится болезням инфекционной этиологии, среди которых, уступая лишь колибактериозу и сальмонеллезу, значительная роль отводится пастереллезу свиней.

Пастереллезы относятся к числу наиболее широко распространенных инфекционных заболеваний животных, регистрируемых во многих странах мира. Экономический ущерб, наносимый этим заболеванием, складывается из потерь от падежа, вынужденного убоя больных животных и затрат на проведение профилактических и оздоровительных мероприятий [6].

В семейство, к которому относится возбудитель, входят три рода. Род *Pasteurella* включает 15 видов, два из которых: *P. multocida* и *P. haemolytica* являются возбудителями пастереллезов животных. У свиней ведущее место в этиологии развития пастереллеза отводится *P. multocida* сероваров А, В, D (по капсульному антигену).

В Беларуси пастереллез был впервые выделен в 1912 году в Беловежской пуще от диких кабанов. В свиноводческих хозяйствах впервые выделили пастереллез в 1945 году [5]. При этом заболело одно животное. С 1950 года в Республике Беларусь число выявленных неблагополучных пунктов по пастереллезу свиней составило 56. И с этого года наблюдается резкое увеличение количества случаев заболевания животных. В настоящее время данное заболевание занимает третье место среди болезней животных инфекционной этиологии, регистрируемых в Республике Беларусь.

Одним из основных звеньев в системе мер борьбы с пастереллезом свиней является иммунопрофилактика [1,2,3,4]. В настоящее время для борьбы с данным заболеванием на территории нашего государства применяются большое количество живых и инактивированных вакцин, обладающих своими достоинствами и недостатками. Используемые в Республике Беларусь вакцины либо поливалентны, что не всегда нужно производству, либо моновалентны, но иностранного производства, а соответственно дороже отечественных аналогов, либо не содержат полного набора антигенов в своем составе. Кроме того, в настоящее время все западные производители в производстве инактивированных вакцин стремятся использовать адъюванты зарекомендовавших себя производителей. К таким производителям относится французская фирма Seppic, известная производством адъювантов.

Разработка отечественной вакцины против пастереллеза свиней с использованием адъювантов фирмы Seppic на данном этапе развития свиноводческой отрасли в Республике Беларусь позволит получить высококачественный препарат, который в свою очередь позволит снизить затраты на проведение профилактических мероприятий, направленных против данного заболевания, за счет снижения себестоимости вакцины.

Цель исследований – изучение иммунной активности опытной серии инактивированной вакцины против пастереллеза свиней.

При этом основной задачей явилось определение титра специфических антител к *P. multocida* в сыворотках крови поросят до иммунизации, а также после иммунизации их опытной серией инактивированной вакцины против пастереллеза свиней, а также установление зависимости титра от используемой дозы.

Материалы и методы. Адьюванты фирмы Seppic Montanida ISA 70 и Montanida ISA 206, серовары *P. multocida* А, В и D, сывороточный МПА, поросята 25-28-дневного возраста.

Изготовление вакцины проводили в условиях УП «Витебская биофабрика». Титр специфических антител в сыворотках крови поросят определяли иммуноферментным анализом в полистироловых пластинах производства Всероссийского научно-исследовательского института защиты животных.

Для изготовления вакцины использовали адьюванты французской фирмы Seppic – Montanida ISA 70 и Montanida ISA 206. В качестве водной фазы использовали серовары А, В и D *Pasteurella multocida*. Серовары смешивали в соотношении 1:1:1. При этом общее количество микробных клеток в 1 мл препарата составило 7,5 млрд. (по 2,5 млрд. м.к каждого сероварианта). Нарращивание биомассы провели на сывороточном МПА. После суточной инкубации при 37°C в условиях термостата делали смыв культур и по стандарту мутности доводили концентрацию микробных клеток до 2,5 млрд в 1 мл суспензии. Адьювант и антиген брали в соотношении по массе 50:50.

В опыте использовали поросят 25 – 28 дневного возраста, по три животных на каждую вакцину. Также использовали в качестве контроля трех поросят, которым вакцину не вводили. Кровь от поросят отбирали перед иммунизацией, через 10 дней после иммунизации, на 21-й и 30-й дни после вакцинации. Затем получали сыворотку, которую использовали в постановке иммуноферментного анализа. Всего в опыте было использовано 18 поросят. Схема вакцинации поросят представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Схема вакцинации поросят

Количество голов	контроль	Вакцинированные против пастереллеза поросята				
		Вакцина с адьювантом Montanida ISA 206				Montanida ISA 70
	Доза (мл)	1	2	3	* 1 / 2	2
	3	3	3	3	3	3
Группа	1	2	3	4	5	6

* - в первую вакцинацию вводили 1 мл вакцины, через 10 дней повторно ввели 2 мл вакцины

Как видно из таблицы 1, 12 животных было привито вакциной, в которой в качестве масляной фазы использовали адьювант Montanida ISA 206, и только 3 животных было иммунизировано вакциной с адьювантом Montanida ISA 70. Кроме того, группе №5 при первичной иммунизации вводили 1 мл/животное вакцины, а при вторичной вакцинации через десять дней ввели уже 2 мл/животное. Группа №1 – контрольная - вакцинации не подвергалась. Вакцину с адьювантом Montanida ISA 70 использовали лишь в дозе 2 мл/животное. Это обусловлено тем, что предыдущие опыты по изучению реактогенности и иммуногенности полученных вакцин на лабораторных животных показали, что вакцина с адьювантом Montanida ISA 206 обладает меньшей реактогенностью и лучшей иммуногенностью [1]. Кроме того, фирма Seppic рекомендует использовать для свиней при приготовлении инактивированных бактериальных вакцин адьювант Montanida ISA 206.

Полученные результаты по изучению титра специфических антител в сыворотках крови поросят контрольной и опытной групп можно видеть в таблице 2. Как видно из таблицы, при взятии крови у поросят перед вакцинацией специфические антитела в сыворотке крови к *P. multocida* отсутствовали или были низкими, что говорит о персистенции возбудителя в стаде. На 10-й день после вакцинации в сыворотках крови иммунизированных животных появляются специфические антитела против пастереллеза свиней. Однако больших различий титров антител в группах в зависимости от дозы введения вакцины выявлено не было. Титр находился в пределах от 1:714 – до 1:790 ($P > 0.05$). У поросят контрольной группы, которые не подвергались иммунизации, на протяжении всего опыта в крови обнаруживались специфические антитела, однако их титр не имеет диагностического значения, так как титр до 300 является отрицательным, а достоверным считается титр после 600.

При дальнейшем изучении титра к 21 дню после вакцинации наблюдается его увеличение во всех опытных группах, и это увеличение тем значительнее, чем выше была доза вводимого препарата. У группы поросят, которой вводили вакцину с адьювантом Montanida ISA 206 двукратно, титр антител на 21 день после вакцинации был выше, чем у животных остальных опытных групп.

Разница же между группой, привитой вакциной с адьювантом Montanida ISA 206 в дозе 2 мл/животное, и группой, иммунизированной вакциной с адьювантом Montanida ISA 70, также была не достоверной. Однако титр специфических антител в группе №3 все же был выше по сравнению с титром антител в группе №6. Это еще раз свидетельствует о предпочтении адьюванта Montanida ISA 206 для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза свиней.

На 30-й день после вакцинации титр специфических антител в сыворотке крови иммунизированных поросят продолжал расти и находился в пределах от 1097 (группа 2) до 1325 (группа 5). При этом достоверной разницы в уровне антител между группой №3 и №4 не наблюдалось. Но одновременно с этим титр специфических антител в группе №4 был выше, чем в группе №3.

Наибольшие титры специфических антител на протяжении всего опыта наблюдались в группе №5, в которой поросята вакцинировались дважды, с интервалом в 10 дней, в дозах 1 мл и 2 мл на животное соответственно. Однако титры антител в группах №3 и №4 также были на высоком уровне, что свидетельствует о возможности однократного применения вакцины с целью создания у поросят напряженного иммунитета к пастереллезу.

При взятии сыворотки крови у поросят на 60-й и 90-й дни после вакцинации титр специфических антител был на том же уровне, что и на 30-й день после иммунизации во всех группах, кроме контрольной.

При наблюдении за животными после их вакцинации у последних никаких осложнений не наблюдалось. Животные оставались клинически здоровыми на протяжении всего опыта. Приглухлостей и повышения температуры на месте введения также не наблюдалось.

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1 – титр специфических антител в сыворотке крови иммунизированных животных напрямую зависит от дозы применения вакцины.

2 – для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза свиней предпочтительнее использовать адъювант фирмы Seppic Montanida ISA 206.

3 – вакцина с данным адъювантом формирует длительный напряженный иммунитет, который сохраняется более 3-х месяцев после вакцинации.

Таблица 2 — Зависимость титра специфических антител к *P. multocida* от дозы вакцины

Группа	Доза (мл)	День отбора сыворотки крови	Титр		
			Животное		
			1	2	3
Контроль №1	-	До вакцинации	-	100	-
		10-й день	102	120	95
		21-й день	100	-	-
		30-й день	-	101	92
Montanida ISA 206 №2	1	До вакцинации	200	-	-
		10-й день	774	770	756
		21-й день	1020	1018	1009
		30-й день	1121	1097	1105
Montanida ISA 206 №3	2	До вакцинации	-	125	-
		10-й день	756	714	717
		21-й день	1040	1025	1030
		30-й день	1200	1171	1134
Montanida ISA 206 №4	3	До вакцинации	115	-	215
		10-й день	790	789	782
		21-й день	1063	1065	1051
		30-й день	1232	1208	1154
Montanida ISA 206 №5	1 / 2	До вакцинации	-	-	-
		10-й день	756	741	775
		21-й день	1082	1068	1090
		30-й день	1302	1298	1325
Montanida ISA 70 №6	2	До вакцинации	201	-	-
		10-й день	757	733	726
		21-й день	1021	1012	999
		30-й день	1187	1169	1098

Заключение. Для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза свиней возможно использование адъювантов фирмы Seppic. Вакцина с этими адъювантами при применении не вызывает осложнений на месте введения, при этом при иммунизации у поросят наблюдается формирование стойкого продолжительного иммунитета о чем свидетельствуют высокие титры специфических антител в сыворотках крови во всех группах вакцинированных животных. Применение данной вакцины возможно однократно в дозах 2 или 3 мл на животное, либо двукратно в дозах 1 и 2 мл на животное соответственно. Для изготовления вакцины предпочтительнее использовать адъювант Montanida ISA 206, обладающий не высокой реактогенностью.

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. Профилактика пастереллеза сельскохозяйственных животных на современном этапе / Н.Н. Андросик, Ю.Г. Лях // Весці академіі аграрных навук Рэспублікі Беларусь. – 2000. – №4. – С. 62 – 64. 4. Совершенствование специфической профилактики пастереллеза / В.Е. Заерко, В.И. Ситьков, И.К. Тутов // Ветеринария. – 2000. – №6. – С. 20 – 22. 5. Сравнительное изучение эффективности противопастереллезной вакцины для свиней / Х.В. Саркисян [и др.] // Ветеринарная патология. – 2003. - №1. – С. 135 – 138. 6. Эпизоотическая ситуация и прогноз по пастереллезу свиней в Республике Беларусь / Ю.Г. Лях // Ветеринарная патология. – 2003. – №1. – С. 137 – 139.