

Таблица – Результаты производственных испытаний концентрированной вакцины против рожи свиней из матрикса Конева

Показатели	Ед. изм.	Наименование хозяйств			
		ОАО «Оршанский КХП Дубровенского ПУ»		ОАО «Лидяхлебопродукт»	
		Группы животных			
		опытная	контроль	опытная	контроль
Количество животных в группе	гол	360	340	540	500
Кол-во животных, имевших поствакцинальные осложнения	гол	-	12	-	14
Кол-во животных, заболевших рожей в период наблюдения	гол	-	7	-	8
Из них: пало вынужденно убито	гол	-	1	-	-
	гол	-	2	-	3
Эпизоотическая эффективность вакцины	%	100	94,4	100	95,6

В ОАО «Лидяхлебопродукт» на свинокомплексе «Прогресс» из 500 свиней, привитых депонированной вакциной, поствакцинальные осложнения были отмечены у 14 животных. 8 свиней заболели рожей в период наблюдения. Эпизоотическая эффективность составила 95,6%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что испытываемая вакцина обладает более высокой эпизоотической эффективностью по сравнению со своим производственным аналогом.

**Заключение.** Нами изучена иммунологическая эффективность концентрированной вакцины против рожи свиней из матрикса Конева, определена ее иммуногенность, проведено производственное испытание биопрепарата. В ходе проведенных исследований установлено, что приготовленная вакцина опытной серии обладает более выраженными иммуногенными свойствами по сравнению со своим производственным аналогом, обеспечивает защиту привитых поросят от заражения.

**Литература.** 1. Бакулов, И.А. Рожа свиней / И.А. Бакулов // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2006. – № 9. – С. 16-19. 2. Дремач, Г.Э. Совершенствование специфической профилактики рожи свиней / Г.Э. Дремач, В.В. Максимович, В.В. Зайцев // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Т. 41, вып. 1 – С. 22-26. 3. Дремач, Г.Э. Эффективность применения депонированной (концентрированной) вакцины против рожи свиней / Г.Э. Дремач // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – Т. 42. – Вып. 2, ч. 1. – С. 72-75. 4. Ездакова, И.Ю. Оценка иммуномодулирующей активности вакцины против рожи свиней (BP-2) в процессе иммуногенеза / И.Ю. Ездакова, Ю.Н. Федоров, И.В. Третьякова // *Труды ВИЭВ*. – 2003. – Т. 73. – С. 200-204. 5. Разработка новых средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2004. – Т. 40, ч. 1. – С. 245-246. 6. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // *Ветеринарная наука – производству: Науч. тр. РНИУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского" по материалам Междунар. науч.-практ. конф. "Актуальные проблемы вет. медицины в условиях современного животноводства", посвященной 75-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси и 100-летию со дня рождения академика Р.С. Чеботарева*. – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 359-361. 7. Русалеев, В.С. Бактериальные вакцины в свиноводстве / В.С. Русалеев, В.М. Гневашев, О.В. Прунтова // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2005. – № 12. – С. 21-23. 8. Совершенствование специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович [и др.] // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 83-85. 9. Специфическая профилактика рожи свиней / Р.В. Душук [и др.] // *Ветеринария*. – 2002. – № 3. – С. 33-35. 10. Справочник по применению вакцин, зарегистрированных в Республике Беларусь, против инфекционных болезней крупного рогатого скота, свиней, мелкого рогатого скота, лошадей, плотоядных и животных разных видов / сост. В.В. Максимович [и др.] – Минск: Техноперспектива, 2006. – 166 с. 11. Шубина, Е.А. Специфическая профилактика рожи свиней / Е.А. Шубина // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2006. – № 9. – С. 19-20.

УДК 619:579.852.11:636.028:638.1

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАТОГЕННОСТИ КУЛЬТУРЫ PAENIBACILLUS ALVEI, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПОГИБШЕГО ПЧЕЛИНОГО РАСПЛОДА

Дунец Е.Н., Герасимчик В.А.

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

В лаборатории для выделения чистой культуры и определения патогенности возбудителя проводят заражение лабораторных животных – чаще всего белых мышей. Определение патогенности микробных культур имеет большое значение в силу того, что многие виды бактерий могут быть опасны для животных и человека. При проведении исследований установлено, что культура *Paenibacillus alvei* для белых мышей не патогенна.

For the pure culture of the pathogen to recover inoculation of white mice is necessary. Determining the pathogenicity of microbial cultures is very important because many of them are dangerous to humans and animals. It has been established that the *Paenibacillus alvei* culture proves not to be pathogenic for white mice.

**Введение.** Европейский гнилец представляет собой инфекционную болезнь, вызываемую различными микроорганизмами бактериальной природы. Болезнь поражает чаще всего незапечатанный пчелиный или трутневой расплод. Заболевшие личинки погибают в 3–4-дневном возрасте, в случае запоздалого лечения погибают 7-дневные личинки и предкуколки [8, 9].

Европейский гнилец может вызвать один или несколько микробов: *Melissococcus pluton*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus laterosporus*, *Achromobacter eurydice* и *Paenibacillus alvei*. Среди них чаще всего болезнь вызывают бактерии *Paenibacillus alvei*.

Споры *P. alvei* длительное время находятся в продуктах пчеловодства, сотах, рамках, стенках улья и пчеловодном инвентаре. На них плохо действуют некоторые лечебные и дезинфицирующие средства.

*P. alvei* вызывает болезнь в основном у личинок пчел; при отсутствии лечения могут поражаться личинки трутней и маток. Возбудитель может быть патогенен для мух, большой восковой моли, совки. По некоторым данным микроорганизм патогенен для лабораторных животных: белых мышей, кроликов и морских свинок [3, 8].

Источником болезни являются больные и погибшие личинки. Переносчиками возбудителя служат рои, отводки, пчеломатки, пчелы-кормилицы, воровки, клещ варроа и др. Факторами передачи служат вошина, соторамки, ульи, пчеловодный инвентарь, спецодежда и др.

Болезнь чаще регистрируют во второй половине мая – начале июня, а в некоторых случаях признаки болезни появляются уже в первой половине мая [5, 8].

Первые признаки болезни чаще протекают незамеченными, характеризуются повышенной подвижностью личинок, изменением их расположения в ячейках: они вытягиваются вдоль или поперек ячеек, тело теряет округлую форму, перламутровый блеск. Крышечки при этом потемневшие, но не втянуты внутрь, иногда могут быть продырявлены.

Погибшие личинки – тусклые, вздутые, вначале они желтеют, а затем становятся коричневыми. Гнилостная масса в начале болезни имеет запах кислых яблок, а затем – запах гниющего мяса. К тому же она имеет консистенцию плохо замешанного теста и не тянется за спичкой или пинцетом. Высыхая, гнилостная масса превращается в корочку, которая располагается на нижней стенке ячейки или в нижнем заднем углу ячейки. Высохшая корочка не прикрепляется к стенке и донышку, и извлечь ее легко. Сот блестит [2, 9].

Болезнь может длиться годами и вызвать гибель всех пчелиных семей на пасеке. Пораженные пчелосемьи зимуют тяжело. Болезнь взрослых особей протекает в скрытой форме, при этом они снижают работоспособность, угнетены, безразличны к охране гнезда, поэтому такие семьи чаще подвергаются воровству [3, 12].

В зависимости от количества погибших личинок, различают 3 степени поражения пчелиной семьи: слабую, среднюю и сильную. При слабой степени поражения регистрируют до 10 больных личинок на соте, при средней – до 20, при сильной – более 30 пораженных личинок.

Диагноз на гнильцовые болезни ставится на основании эпизоотической ситуации, клинических признаков и лабораторных исследований. Возбудителей гнильцов необходимо отличать от других возбудителей других гнильцовых болезней, мешотчатого расплода, варрооза и застуженного расплода.

В лаборатории выделение чистой культуры проводят по методу Дригальского, а затем определяют культурально-морфологические, биохимические, патогенные и другие свойства бактерий, составляющих культуру [1, 10 и 11].

Целью исследования явилось определение патогенности культуры *P. alvei*, выделенной из погибшего пчелиного расплода пчелосемьи, принадлежащей ГПУ «Березинский биосферный заповедник» Лепельского района Витебской области.

**Материал и методы.** Определение патогенности культуры *Paenibacillus alvei* проводили в условиях клиники кафедры болезней мелких животных и птиц УО ВГАВМ и лаборатории кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ.

Материалом исследований послужила культура возбудителя европейского гнильца *P. alvei*, изолированная из погибшего пчелиного расплода пчелосемьи, принадлежащей ГПУ «Березинский биосферный заповедник» Лепельского района Витебской области. Культура была выделена с использованием общеизвестных методик [6, 7]. Видовую принадлежность возбудителя европейского гнильца установили с помощью «краткого определителя бактерий Берги» (1980) [4]. Культуру *P. alvei* использовали для заражения лабораторных животных – белых мышей [6, 7].

В опыт было взято 30 подопытных животных: 6 групп белых мышей по 5 животных в каждой. Лабораторные животные подобраны по принципу аналогов: самцы 30-дневного возраста живой массой 16–18 г.

Для заражения мышей готовили различные разведения культуры:  $10^{-3}$ ;  $10^{-5}$ ;  $10^{-7}$ ;  $10^{-9}$ ;  $10^{-11}$ .

Лабораторных животных заражали внутрибрюшинно культурой возбудителя европейского гнильца *P. alvei* из каждого разведения, соблюдая правила асептики. Мышей фиксировали головой вниз, чтобы внутренние органы переместились к диафрагме. Культуру *P. alvei* вводили в заднюю часть живота сбоку от средней линии.

Мышей группы № 1 заразили внутрибрюшинно по 0,5 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-3}$ ; № 2 – по 0,5 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-5}$ ; № 3 – по 0,5 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-7}$ ; № 4 – по 0,5 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-9}$ ; № 5 – по 0,5 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-11}$ . Мыши группы № 6 были контрольными – им вводили внутрибрюшинно по 0,5 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида.

После заражения все группы белых мышей были помещены в одинаковые условия содержания и кормления.

За лабораторными животными наблюдали в течение 15 дней после инфицирования. На 7-е и 15-е сутки после заражения мышей были отобраны по 2 животных из каждой группы, которых усыпляли эфиром, вскрывали и из крови и внутренних органов (легкие, печень, селезенка, почки) делали посевы на питательные среды с целью выделения чистой культуры возбудителя. В опыте использовали питательные среды: МПА, МПБ, Томашеца (к расплавленному и охлажденному до 45–50 °С мясопептонному агару (рН = 6,8–7,0) добавляли 10 % стерильной сыворотки крови лошади, перемешивали и выливали в стерильные чашки Петри по 20 мл готовой

среды).

Вскрытие животных осуществляли, соблюдая правила асептики. При вскрытии мышей обращали внимание на патологоанатомические изменения в паренхиматозных органах подопытных.

Исследования проводили в следующем порядке: вначале приготавливали препараты-отпечатки из патологического материала: к чистому обезжиренному предметному стеклу прикладывали кусочки органов. После фиксации препараты окрашивали по Грамму. Затем проводили посев из органов, тканей и жидкостей организма мышей на плотные и жидкие питательные среды. Чашки Петри с посевами на плотных питательных средах и пробирки с посевами на МПБ помещали в термостат при 37,5 °С на 24 часа. На следующий день из выросших колоний на МПА и среде Томашеца, а также из МПБ делали препараты – мазки, которые окрашивали по Грамму для сравнительной характеристики с ранее приготовленными мазками (мазки, сделанные из заведомо известной культуры, паренхиматозных органов и крови). После определения морфологических признаков возбудителя определяли культуральные и биохимические свойства выделенных культур. Все результаты сравнивали с результатами известной культуры *P. alvei*, выделенной ранее.

**Результаты исследований.** Наблюдение за общим состоянием лабораторных животных показало, что инфицированные мыши всех групп (в т. ч. мыши из контрольной группы) чувствовали себя после заражения удовлетворительно. Через несколько часов (3 часа и более) животные принимали корм, воду, скованных движений не наблюдалось. На протяжении всего опыта состояние животных было удовлетворительным. Через двое суток припухлость на месте введения культуры *P. alvei* у белых мышей исчезла.

Результаты определения патогенности культуры различных разведений занесены в таблицу 1.

Таблица 1 – Определение патогенности культуры *P. alvei* для белых мышей

№ опытной группы	Разведение бульонной культуры <i>P. alvei</i>	Количество вводимого разведения (мл)	Число зараженных белых мышей в группе	Пало животных	Выжило животных
1	10 <sup>-3</sup>	0,5	5	0	5
2	10 <sup>-5</sup>	0,5	5	0	5
3	10 <sup>-7</sup>	0,5	5	0	5
4	10 <sup>-9</sup>	0,5	5	0	5
5	10 <sup>-11</sup>	0,5	5	0	5
6 (контроль)	Вводили изотонический р-р NaCl	0,5	5	0	5

Из таблицы 1 видно, что все лабораторные животные во всех группах остались живы. Следовательно, возбудитель европейского гнильца *P. alvei* в указанных разведениях при внутрибрюшинном введении не патогенен для белых мышей.

При микроскопическом исследовании препаратов-отпечатков (увеличение × 100, окуляр × 10, с использованием иммерсионной системы, окраска по Грамму), сделанных из паренхиматозных органов и крови мышей, по морфологическим признакам было установлено, что бактерии в поле зрения микроскопа напоминали возбудителя *P. alvei*.

При патологоанатомическом исследовании паренхиматозных органов нами было установлено, что у всех мышей сердце, легкие, селезенка и почки были без видимых изменений: в размере не увеличены, цвет не изменен, консистенция характерна для данных органов, на разрезе уплотнений не обнаружено. У 3-х мышей из группы № 2 и одной из группы № 3 обнаружены изменения в печени: участки жировой дистрофии (уплотнения имели желтый цвет размером до 15 мм в диаметре).

Колонии, выросшие на плотных (МПА, среда Томашеца) питательных средах (посевы, сделанные из органов и крови подопытных животных) отличались от колоний, приготовленных из чистой культуры, выделенной непосредственно из погибшего пчелиного расплода: имели более выраженные контуры и очертания, были крупнее, центр колонии был темнее ее краев. В мазках, сделанных из данных колоний, выделены возбудители, аналогичные тем, которые были изолированы из пораженного пчелиного расплода. Характер роста бактерий не отличался от характера роста микробов, выделенных из погибшего пчелиного расплода. В препаратах-мазках из МПБ наблюдали однотипные грамположительные бактерии, которые располагались одиночно, неопределенными скоплениями. Биохимические свойства указывали на возбудителя *P. alvei*.

Патологоанатомических изменений у мышей контрольной группы не выявлено. Печень, селезенка, легкие, почки и сердце были без видимых изменений. При посевах на питательные среды из органов (легкие, печень, селезенка, почки) и крови белых мышей, находившихся в контрольной группе, видимого роста не обнаружено.

**Заключение.** Бактерии *Paenibacillus alvei* для мышей массой 16–18 г при внутрибрюшинном заражении их различным количеством микробных клеток не вызывали гибели животных, т.е. возбудитель европейского гнильца у пчел не патогенен для белых мышей.

В период наблюдения за лабораторными животными после инфицирования изменений в поведении, общем состоянии не наблюдалось.

Видимых патологоанатомических изменений во внутренних органах не выявлено.

При бактериологическом исследовании внутренних органов (легкие, печень, селезенка, почки) и крови выделены чистые культуры возбудителя *P. alvei*.

**Литература.** 1. Антонов, Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник / Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина и др.; под ред. Б.И. Антонова // М.: Агропромиздат, 1991. – 287 с.

2. Кириевский, И.Р. Болезни пчел / И.Р. Кириевский // М.: САТ; Донецк: Сталкер, 2006. – 303 с. 3. Кокорев, Н. Болезни и вредители пчел / Н. Кокорев, Б. Чернов // М.: ТИД Континент-Пресс, Континенталь-Книга, 2006. – 352 с. 4. Краткий определитель бактерий Берги / под ред. Дж. Хоупта, пер. с англ. С. Ш. Тер-Казарьяна, под ред. Г.А. Заварзина // М.: «МИР», 1980. – 496 с. 5. Писковой, Ф.Г. Эпизоотология американского и европейского гнильцов пчел и меры борьбы с ними в Краснодарском крае: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / Ф.Г. Писковой. – Краснодар, 1954. 6. Солонко, А.А. Микробиология и иммунология: учеб. пособие. Ч. 1. Общая микробиология и иммунология / А.А. Солонко, А.А. Гласкович, П.А. Красочко и др.; под общ. ред. А.А. Гласкович, П.А. Красочко // Мн.: НПО «ИОН», 2002. – 248 с. 7. Солонко, А.А. Практикум по микробиологии / А.А. Солонко, А.А. Гласкович, Ф.Е. Тимофеев // Мн.: Дизайн ПРО, 1998. – 192 с. 8. Тимофеев, Ф.Е. Болезни пчел / Ф.Е. Тимофеев // Мн.: «Ураджай», 2000. – 182 с. 9. Херольд, Э. Новый курс пчеловодства / Э. Херольд, К. Вайс; пер. с нем. М. Беляева // 10-е изд., перераб. – М.: САТ: Астрель, 2008. – 368 с. 10. Albo, G.N. et al Evaluation of some essential oils for the control and prevention of American Foulbrood disease in honeybees. *Apidologie*, 2003. – 34 (5). P. 417–428. 11. Hornitzky, M.A.Z. The pathogenicity of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* spores and vegetative cells to honey bee (*Apis mellifera*) colonies and their susceptibility to royal jelly, *J. Apic. Res.*, 1998. – 37. – P. 267–271. 12. Kanbar, G. Do *Varroa destructor* mites transfer European foulbrood (*Melissococcus pluton*)? / Kanbar G; Engels W.; Winkelmann G. // *Apidologie*, 2002. – Vol. 33. – P. 487–88.

УДК 619.615.37

## ОЦЕНКА АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ПРОБИОТИКОВ

Жук В.П., Машеро В.А.

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

*Часть изучаемых штаммов обладает устойчивой антагонистической активностью в отношении тест-культур условно-патогенных микроорганизмов. Использование бесклеточных пробиотиков «Лактимет» и «Бацинил» в условиях производства способствует повышению резистентности организма за счет повышения или снижения (в зависимости от состояния организма) общего белка, незначительного повышения бактерицидной активности сыворотки крови, а фагоцитарной активности лейкоцитов — на 7,3%.*

*The part of studied stamms possesses steady opposing activity concerning test cultures of conditional-pathogenic microorganisms. Use acellular probiotics «Lactimet» and «Baciniл» in the conditions of effecting promotes increase of a resistance of an organism at the expense of increase or decrease (depending on an organism state) crude protein, slight increase of bactericidal activity of serum, and phagocytal activity of leucocytes on 7,3 %.*

**Введение.** Нарушение микробиоценоза кишечника часто является одной из причин возникновения массовых заболеваний и отхода животных. Поэтому решение проблемы по созданию новых биопрепаратов для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний актуально и имеет большой научный и практический интерес. На сегодняшний день, для нормализации микробиоценоза кишечника все большее распространение получает использование различных видов пробиотиков. Однако из-за особенностей пищеварения сельскохозяйственных животных возникает необходимость применения бесклеточных пробиотиков, т.е. препаратов, которые представляют собой продукты метаболизма лакто- и бифидобактерий, и в которых отсутствуют бактериальные клетки, что позволяет снять последствия переваривания бактериальных клеток. Это связано с тем, что особенностью пищеварения сельскохозяйственных животных является высокая переваримость белков животного, растительного и микробного происхождения под воздействием ферментов желудочного сока, что приводит к перевариванию корпускулярных пробиотиков на основе лакто- и бифидобактерий. Но продукты их метаболизма, цитоплазма бактериальных клеток проникает в кишечник и способствует угнетению условно-патогенной и патогенной микрофлоры, а также нормализации микробиоценоза кишечника. В этой связи применение бесклеточных пробиотиков, то есть препаратов, которые представляют собой продукты метаболизма бактерий и в которых отсутствуют бактериальные клетки, позволяет снять последствия переваривания бактериальных клеток. Особенностью бесклеточных пробиотиков также является высокая биологическая активность, и повышение срока их хранения до 1 года, тогда как жидкие клеточные препараты хранятся до 2-3 месяцев[1].

**Материал и методы.** Исследования проводились в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», ЗАО «Липовцы» Витебской области.

Для оценки антагонистической активности бактерий использованы штаммы лакто- и бифидобактерий, бацилл из коллекции микроорганизмов ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», а также штаммы возбудителей желудочно-кишечных инфекций телят и поросят из коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Предметом настоящего исследования была антагонистическая активность штаммов – продуцентов метаболитов, а также лечебная и профилактическая эффективность пробиотиков «Лактимет» и «Бацинил». Оценку антагонистической активности проводили методом диффузии в агар в отношении патогенных и условно-патогенных возбудителей желудочно-кишечных инфекций телят и поросят (*E.coli* K 99:F41, *E.coli* O18, *Salm. tiphimurium*, *Proteus mirabilis*, *Past. haemolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Staph. aureus*). Объектом исследования служили 29 штаммов лактобактерий различных видов, 13 штаммов бифидобактерий и 35 штаммов бацилл (*Bac. subtilis* и *Bac. pumilis*). Исследование проводили с использованием мясоептонного агара. Продукты метаболизма лакто- и бифидобактерий получали путем глубинного культивирования их без аэрации на жидкой тиогликолевой среде, метаболиты бацилл получали после культивирования их на мясоептонном бульоне в течение 4-х дней, после чего проводили удаление бактериальных клеток центрифугированием и стерилизующей фильтрацией[2].