

ется спустя 48 часов после заражения и их титр составлял 1×10^5 КОЕ/мл.

При контроле титра микоплазм в культуре клеток в зависимости от их пассажа мы установили, что он был не постоянным. Начиная с первого пассажа он с небольшими колебаниями постепенно возрастал достигая максимума ($1 \times 10^{5.5}$ КОЕ/мл) к 6-му пассажу. Затем титр микоплазм снижался с небольшим подъемом после 10 и 11-го пассажей.

Выводы. В результате проведенных исследований установили, что размножение *M. hyorhynchos* на перевиваемых культурах клеток СПЭВ,

МДВК, FL, Vero и FRHK мы не наблюдали, и лишь культура клеток Marc оказалась чувствительной к этому виду микоплазм. Однако и в данной культуре клеток высоких и стабильных показателей накопления возбудителя микоплазмоза свиней не произошло. Поэтому необходимо провести дальнейшие исследования по подбору оптимальной питательной среды как для культуры клеток Marc так и самой микоплазмы, а также по использованию других культур клеток, которые оказались более чувствительными к *M. hyorhynchos*.

УДК 619. 616.98.579:615.843.94

ВЛИЯНИЕ ФОРМАЛИНА, ТЕОТРОПИНА И ГИДРОКСИЛАМИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *M. HYORHYNCHOS*

Андросик Н.Н., Мистейко М.М., Финогенов А.Ю.

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси»

Своевременное и четкое проведение в жизнь комплекса профилактических и противозoonотических мероприятий позволит надежно предупредить болезни свиней, а при возникновении в короткие сроки ликвидировать их, что обеспечит высокую рентабельность свиноводства. Это во многом зависит от качества вакцин, степени сохранения антигенных свойств возбудителя и способности обеспечивать напряженный иммунный ответ.

Согласно литературным данным для инактивации вирусов и бактерий используется фенол, формалин и некоторые другие химические соединения, которые оказывают воздействие на эффективность вакцины. Они приводят к разрушению не только клеточных структур, но и к частичной инактивации наиболее лабильных антигенных фракций.

В тоже время, солянокислый гидроксилламин в процессе взаимодействия с микроорганизмами разрушает их генетический аппарат, максимально сохраняя нативность белковой оболочки [3,5]. Кроме того, он является безостаточным препаратом, так как в процессе обработки культур солянокислый гидроксилламин полностью расщепляется на воду и газообразные, легко удаляющиеся продукты - аммиак и азот [4].

С целью инактивации *Mycoplasma hyorhynchos*, *Mycoplasma laidlawii* было апробировано радиоактивное излучение [1]. Для облучения использовалась гамма-установка с возрастающими дозами облучения (от 0,05 до 0,5 кГр). Было установлено, что микоплазмы слабоустойчивы к воздействию радиоактивного излучения и выживаемость их зависит от дозы облучения.

Изучение инактивирующего действия солянокислого гидроксилламина проводилось на культуры *Haemophilus parasuis* и *Mycoplasma hyorhynchos*. Было установлено, что полное инактивирование *H. parasuis* наступало в дозах препарата 0,1 мг на 1 млрд. м.к. и выше через 8 часов, а в концентрации гидроксилламина 0,05 мг на 1 млрд. м.к. и ниже не вызывает их гибели в течение 2 суток. При опреде-

лении инактивирующего действия солянокислого гидроксилламина на *M. hyorhynchos* было установлено, что в концентрации 1:9000 снижает титр микоплазм до 10^4 . Доза его 1:7000 уменьшает титр *M. hyorhynchos* до 10^2 , а концентрация 1:5000 - 1:6000 - до 10^2 . Добавление этого препарата в конечной концентрации 1:4000 и выше вызывало полную инактивацию через 24 ч [2].

Целью нашей работы было проведение исследования о влиянии различных концентраций и экспозиций на инактивацию бульонной культуры *Mycoplasma hyorhynchos* формалином, гидроксилламином и теотропином.

Материалы и методы. В работе использовали референтный штамм *Mycoplasma hyorhynchos*. Инактивации подлежала культура, полученная после 8-дневного культивирования в бульоне. Концентрация микробной взвеси составляла 10^9 .

Гидроксилламин гидрохлорид испытывали в 0,1%, 0,25%, 0,4% и 0,5%, теотропин 0,05%, 0,1% и 0,2%, формалин 0,1%, 0,25%, 0,5% и 1% конечном насыщении. Инактивацию проводили при 37 °С в течение 72 часов. Выживаемость *M. hyorhynchos* определяли путем отбора проб и посева их на агар Мартена сразу после внесения препаратов и через каждые 12 часов.

Результаты исследований. Проведенный опыт позволил нам представить динамику инактивации *M. hyorhynchos* в жидкой питательной среде различными инактивантами и определить зависимость процентного соотношения инактиванта и среды. Результаты испытаний показали, что эффективное инактивирование *M. hyorhynchos* достигается при доведении конечного насыщения инактивирующих растворов до 0,1% теотропина, 0,4% гидроксилламина и 0,5% формальдегида в среде. Для того, чтобы полностью инактивировать возбудителя потребовалась экспозиция 12 часов. Конечная концентрация 0,05% теотропина, 0,25% гидроксилламина и 0,25 % формалина в культуральной среде при той же экспозиции инактивирующих рас-

творов титр микоплазм снижала до 10^{3-4} , а полная инактивация (стерилизация) микоплазмы происходила через 36 часов после добавления инактивирующих растворов.

Выводы. Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что *Mycoplasma hyorheumoniae* слабо устойчива к воздействию инактиваторов и выживаемость ее зависит от дозы препарата и продолжительности контакта. По мере увеличения экспозиции и насыщения жизнеспособность антигена уменьшается.

Полная инактивация *Mycoplasma hyorheumoniae* в среде достигается в присутствии 0,1% теотропина, 0,4% гидроксиламина и 0,5% формалина при экспозиции 12 часов, а так же в присутствии 0,05% теотропина, 0,25% гидроксиламина, и 0,25 % формалина при экспозиции 36 часов.

Можно заключить, что применение соляно-

кислого гидроксиламина и теотропина позволит получать надежный и безопасный вариант противомикоплазмозной вакцины.

Литература. 1. Андросик Н.Н. Влияние ионизирующего излучения на жизнеспособность и иммуногенность микоплазм // Ветеринарная наука производству. 1983. - С.59. 2. Андросик Н.Н., Толяронок. Г.Е. Влияние солянокислого гидроксиламина на жизнеспособность гемофильных бактерий и микоплазм // Ветеринарная наука производству. 1991. - С.79-82. 3. Костина Г.И. К вопросу о механизмах химической инактивации микроорганизмов // ЖМЭИ. 1981. № 8 - С.25-28. 4. Шапиро Н.И., Карпухин Г.Н. Вакцины для профилактики и лечения кишечных бактериальных инфекций // Сб. науч. тр. / Московский ин-т вакцин и сывороток им. И.М. Мечникова. М., 1976. - С.128-129. 5. Visser N., Moortmeyer R. Quantification characterization and satetu testing of foot and mouth disease virus antigens eluted from alhydrogel vaccines // Develop. Biol. Standard. 1982. Vol. 50. - P. 45.

УДК: 619:616.476:615.37

ВЛИЯНИЕ НУКЛЕВИТА И АПИСТИМУЛИНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ ГАМБОРО

Большаков С.А., Прудников В.С., Большакова Е.И.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Наиболее эффективным методом предупреждения и ликвидации болезни Гамборо (инфекционная бурсальная болезнь) является вакцинопрофилактика. Птицеводческие хозяйства вынуждены использовать дорогостоящие зарубежные вакцины, что не всем доступно. В связи с этим, в РБ разработана и внедряется в производство жидкая эмбриональная вирус-вакцина против инфекционной бурсальной болезни (ИББ) из штамма «КМИЭВ - 13».

Иммунизация цыплят против ИББ вакцинами с остаточными реактогенными свойствами приводит к развитию у птиц морфологических признаков приобретенного иммунодефицита и к ослаблению иммунного ответа. Поэтому необходимо применять иммуностимулирующие препараты.

В связи с этим целью наших исследований явилось изучение иммуноморфологических реакций у цыплят, вакцинированных жидкой эмбриональной вирус-вакциной против инфекционной бурсальной болезни (БелНИИЭВ), и влияние на него иммуностимуляторов.

Опыты были проведены на 60 цыплятах 9-41-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов, и разделенных на 4 группы, по 15 птиц в каждой. Птицу 1-ой группы иммунизировали вакциной с нуклевитом. Цыплятам 2-ой группы – вакцину с апистимулином. Птицу 3-ей группы иммунизировали одной вакциной согласно Наставлению. Интактные цыплята 4-ой группы служили контролем. Нуклевит и апистимулин применяли также согласно Наставлению по их применению.

На 7-й день после 1-ой, 7-ой и 14-й день после повторной вакцинации по 5 птиц из каждой группы убивали для проведения иммуноморфологи-

ческих исследований. От них отбирали кусочки бурсы Фабриция, тимуса, селезенки, слепки кишечника миндалины, дивертикула Меккеля, печени, почек и миокарда, участки тонкого и толстого кишечника.

В эти же сроки проводили морфологическое исследование крови, которую получали из яремной и крыльцовой вен. Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере Горяева. Мазки крови окрашивали по Романовскому-Гимза и Браше. Лейкограмму выводили на основании подсчета 100 клеток, дифференцирование Т- и В-лимфоцитов осуществляли с учетом размера клеток, величины ядра, цитоплазмы и интенсивности их окраски. Относительное содержание РНК в клетках оценивали по трехбалльной системе, подсчитывая 100 клеток каждой категории. Для объективного сопоставления полученных результатов выводили средний цитохимический коэффициент.

Весь цифровой материал обрабатывали статистически.

Результаты исследований показали, что в крови птиц 3-й группы, вакцинированных без иммуностимуляторов на 7-й день после первой иммунизации отмечалось увеличение, по сравнению с контролем, числа лейкоцитов – в 1,7 раза, тромбоцитов – на 20% и существенно не изменялось содержание эритроцитов и гемоглобина. В лейкограмме статистически достоверно повышалось содержание Т- и В-лимфоцитов. У цыплят, иммунизированных с нуклевитом и апистимулином, количество лейкоцитов и тромбоцитов было выше на 10-20% и в 1,4 раза возрастало абсолютное содержание Т-лимфоцитов, чем в контроле.