

сальмонел, так і у кишкової палички була висока чутливість до байтрілу і тетрацикліну і абсолютна резистентність до пеніциліну.

Література

1. Апатенко В.М., Сосницький А.И., Заболотная В.П. Новая наука паразитология и парадигмальность образования // Сб.науч.работ ЛНАУ.-Вет.науки №63/86.-Луганск.-2006.-С.7-11.
2. Доценко В.А., Симонович В.Н., Головачева Н.А. и др. Ассоциации условно-патогенных микроорганизмов у павших и мертворожденных поросят // сб. науч. тр. ЛНАУ.- Вет. науки № 63/86.- Луганск.- 2006.- С. 53-57.
3. Симонович В.Н., Бублик В.Г., Доценко В.А., Головачова Н.А., Звягинцева И.С., Васильченко К.Н. Этиопатогенетические основы профилактики и лечения колибактериоза телят. // Научовий вісник Луганського НАУ, Ветеринарні науки, Луганськ, «Елтон-2», 2009, № 9, с.123-128.
4. Доценко В.О., Кича К.І., Руденко А.Ф., Симонович В.М., Бублик В.М. Методичеї рекомендації Лабораторна діагностика захворювань травного каналу молодняку сільськогосподарських тварин, що викликаються умовно- патогенними ентеробактеріями. // - Луганськ, ТОВ ЕЛТОН-2, 2006 – 28 с.

РОЛЬ АСОЦИАЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ОСТРЫХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПОРОСЯТ

Симонович В. Н. - к. вет. н., доцент; Бублик В. Н. - к. биол. н., доцент;
Доценко В. А. – к. вет. н., доцент; Звягинцева – Лысенко И. С. – аспирант
irinamis@meta.ua

Луганський НАУ, м. Луганськ

Анотация: Свинокомплекс стационарно неблагополучен по колибактериозу и сальмонеллезу. Соотношение сальмонелл и эшерихий составил 61,54 % и 38,46 %, соответственно. Эшерихии были представлены бета-гемолитическими штаммами O138, O139, O141, O26, сальмонеллы - S. Typhisuis, S.typhimurium, S.choleraesuis.

Ключевые слова: поросята, опухолевая болезнь , сальмонеллы, эшерихии.

A ROLE ASSOCIATION OF IS CONDITIONAL - PATHOGENIC MICROORGANISMS IN OCCURRENCE OF SHARP GASTROENTERIC ILLNESSES OF PIGLETS

Simonovich V. N., associate professor; Bublic V. N., associate professor;
Dotsenko V. A., associate professor; Zvyaginцева – LYSENKO I. S., a graduate student.,
irinamis@meta.ua

Lugans'kiy NAU, Lugansk

Summary: Svinokompleks stationary unhappy on colibacteriosis and salmonellosis. Correlation of salmonellas and escherichias was made by 61,54 % and 38,46 %, accordingly. Escherichias were presented the β -hemolitics cultures of O138, O139, O141, O26, salmonellas - S.typhisuis, S.typhimurium, S.choleraesuis.

Key words: piglets, tumoral illness, salmonella, esherihia

УДК 619:576.851.45:636.21

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ И РЕФЕРЕНТНОЙ КУЛЬТУРЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПУЛЬМОНАЛЬНОГО ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

Сосницький А.И., к. вет. н., доцент

Луганский национальный аграрный университет, г. Луганск

Аннотация. В сравнительном аспекте изучили биологические свойства эпизоотической культуры и референтного штамма *P. multocida*. Установили тождество морфо-тинкториальных, культуральных и биохимических свойств. Биологические свойства штаммов пастерелл достоверно отличаются по иммуногенности и сходны по патогенности и вирулентности.

Ключевые слова: *P. multocida*, эпизоотическая культура, референтный штамм, патогенность, вирулентность, иммуногенность.

Актуальность проблемы. Инфекционная патология с респираторным синдромом факторного типа эндогенного происхождения у телят и поросят индуцируется вирус-бактериальными ассоциациями с доминантной ролью в этиопатогенезе пульмонального процесса *P. multocida* сероваров А и D [2-4,6,8].

Возбудитель относится к убиквитарным микроорганизмам с широким спектром патогенности и вариабельной вирулентностью, обладает выраженной способностью к персистенции биологически гетерогенных штаммов и формированию стационарно неблагополучных эпизоотических очагов инфекции. Пульмональный пастереллез возникает при воздействии биотических- и абиотических стресс-факторов, приводящих к снижению общей резистентности животных, как оппортунистическая инфекция иммунонекомпетентного организма перед микробами выхода [1,7-13,16-18].

Заболевание протекает тяжело, охватывает большой контингент особей, трудно поддается лечению и приводит к падежу, значительной выбраковке животных из-за снижения продуктивности и вследствие нежизнеспособности.

Рациональным способом контроля пульмональной пастереллезной инфекции молодняка является вакцинация восприимчивого поголовья высокоактивными вакцинами, содержащими гомологичные антигены циркулирующему возбудителю. Поиску высокоиммуногенного возбудителя и изучению его свойств посвящена эта работа, являющаяся фрагментом исследований по созданию вакцинного масляно-эмульсионного препарата против пульмонального пастереллеза факторного типа на основе инактивированного димером этиленimina антигенного комплекса *P. multocida* сероваров А, D и В [5,9-16].

Цель исследования. Сравнительное изучение морфо-тинкториальных, культуральных, биохимических, биологических и иммуногенных свойств эпизоотической культуры *P. multocida* и референтного штамма.

Материалы и методы. Накопление возбудителя в суточной бульонной культуре (Р) определяли титрованием десятикратных разведений на 5% кровяном МПА или в бульоне по Хоттингеру.

Патогенность изучали на нелинейных белых мышах, массой 18-20 г, которым подкожно вводили по 0,5 см³ суточной бульонной культуры возбудителя в разведениях с 10⁹ до 10⁵, по 4 мыши на заражающую дозу, и выражали в DLM и DCL.

Вирулентность определяли на белых мышах, массой 16-18 г, кроликах породы шиншилла, массой 1,5-1,8 кг и морских свинках, массой 250-300 г. Животных заражали оттитрованными дозами суточной бульонной культуры в объеме 0,5 см³, по 6 особей на одно разведение. Белых мышей заражали подкожно, кроликов и морских свинок – в бедро.

Иммуногенность определяли на белых мышах, массой 30-34 г. По 6 мышей иммунизировали пастереллами, инактивированными димером этиленimina. Через 21 сутки мышей заражали смертельной дозой бульонной культуры.

Количественное значение LD₅₀ и ImD₅₀, доверительный интервал (I) единичного определения с уровнем значимости P≤0,95 рассчитывали по Н.П. Ашмарину (1962).

Результаты исследования. Эпизоотическую культуру *P. multocida* серовар А штамм № 12 изолировали в 2000 г. в учхозе «Коммунар» Крымского СХИ из секционного материала от теленка, павшего на 12 сутки заболевания в возрасте 53 дня от злокачественного течения острой некротизирующей катарально-фибринозной пневмонии. Возбудитель выделялся из легких, регионарных лимфоузлов, селезенки, печени.

Референтный штамм *P. multocida* серовар А №115 хранили в лиофилизированном виде в ампулах при 4-6 °С.

Морфо-тинкториальные свойства. В препаратах-мазках из суточных культур с МПБ и МПА, окрашенных по Граму, возбудитель был представлен мелкими коккобактериями, розово-красного цвета, расположенных одиночно, попарно или беспорядочными скоплениями. При окраске по Бурри-Гинсу выявлялась непрокрасившаяся капсула. В препаратах-отпечатках из положительного пастереллезного материала при окраске по Романовскому-Гимза или Михину, обнаруживали огромное количество полиморфных биполярно окрашенных пастерелл.

Культуральные свойства. *P. multocida* были быстрорастущими факультативно-анаэробными мезофильными бактериями, в лабораторных субкультурах неприхотливыми к питательным средам. Недиссоциированные культуры на простых средах росли в S-форме, на кровяном агаре в M-форме.

На МПБ в первые сутки появлялось слабое помутнение и опалесценция, при встряхивании наблюдался феномен «муаровые волны», на 3-4 сутки выпадал слизистый осадок и бульон просветлялся. При встряхивании осадок поднимался в виде «косички». Изменение внешнего вида

бульонной культуры обусловлено культуральной диссоциацией, переходом в М-форму, но патогенность при этом сохранялась.

На МПА в первые сутки пастереллы формировали мелкие прозрачные «росинчатые» колонии, флуоресцирующие при косопроходящем освещении. При дальнейшем культивировании колонии увеличивались, мутнели, становились сероватыми, слизистой консистенции.

На кровяном агаре пастереллы росли наиболее интенсивно, в М-форме, в виде крупных непрозрачных колоний слизистой консистенции без зоны гемолиза (в том числе и под колонией).

Рост пастерелл на искусственных питательных средах сопровождался характерным запахом, который исчезал при отмирании культуры.

Биохимические свойства. Культура *P. multocida* ображивала с образованием кислоты без газа глюкозу, сахарозу, декстрозу, фруктозу, галактозу, маннит, ксилозу, а так же сорбит и дульцит (что характерно для серовара А); - не ферментировала мальтозу, трегалозу; - была каталаза- и оксидазаположительной; - молоко не сворачивала; - желатин не разжижала; - выделяла серовород и индол; - не обладала уреазной активностью; - восстанавливала нитраты до нитритов; - продуцировала орнитиндекарбоксилазу; - реакции с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра были отрицательными; - не нуждалась в NAD и X - факторах роста; - на агаре Макконки не росла и гемолитической активностью не обладала.

Антигенные свойства. В РНГА по Картеру с гипериммунной диагностической сывороткой установили, что эпизоотическая культура по капсульному антигену относится к серовару А, так как агглютинировала сенсibilизированные эритроциты барана на ++ в разведении 1:512 или $9 \log_2$.

Патогенность изучали заражением белых мышей разведениями суточной бульонной культурой возбудителя с накоплением $n \times 10^9$ НВЧ/см³ (при $n=1-3$, $P=9,0-9,48 \text{ lg/cm}^3$).

В 5, 6 и 7 десятикратном разведении все мыши погибли от пастереллезного сепсиса через 18-36 часов. В 8 разведении только одна мышь (1/4) пала через сутки, а в 9 разведении все мыши (0/4) не заразились и остались живы. Таким образом, минимальным количественным выражением патогенности пастерелл является разведение 10^{-8} , что приняли за DLM, а разведение 10^{-7} – DCL.

Экспериментальная пастереллезная инфекция у мышей характеризовалась чрезвычайно сильным угнетением, скоротечностью и высокой летальностью. На вскрытии отмечали незначительное количество трансудата в грудной и брюшной полостях, выраженных патизменений не было. В препаратах-мазках из крови сердца, печени и селезенки при окраске по Романовскому-Гимза обнаружили огромное количество полиморфных биполярно окрашенных пастерелл. Из биоматериала была реизолирована исходная культура.

Вирулентность изучали на белых мышах, кроликах, морских свинках. Перед заражением опытных животных определили накопление пастерелл: $R_{\text{штамм №12}} = 1,47 \times 10^9 \text{ ж.м.к./см}^3$; $R_{\text{штамм №115}} = 1,34 \times 10^9 \text{ ж.м.к./см}^3$.

Белых мышей заражали с 9 по 5 десятикратное разведение суточной бульонной культуры. Заболевшие мыши пали в течение 12-36 часов от пастереллезного сепсиса.

I LD₅₀ штамм №12 = 12 ж.м.к. < 69 ж.м.к. < 182 ж.м.к.

I LD₅₀ штамм №115 = 11 ж.м.к. < 64 ж.м.к. < 168 ж.м.к.

Кроликов заражали с 9 по 5 десятикратное разведение суточной бульонной культуры. Заболевшие животные пали во временном диапазоне 14-52 часа от пастереллезного сепсиса с клинической картиной глубокого угнетения.

По результатам заражения патогенность культуры *P. multocida* серовар А для кроликов соответствует разведению 10^{-7} , а разведение 10^{-6} является DCL.

I LD₅₀ штамм №12 = 18 ж.м.к. < 72 ж.м.к. < 288 ж.м.к.

I LD₅₀ штамм №115 = 17 ж.м.к. < 67 ж.м.к. < 267 ж.м.к.

Морских свинок заражали с 5 по 0 десятикратное разведение суточной бульонной культуры. В течение первых суток погибли все животные, зараженные цельной бульонной культурой. Через 2-3 часа после заражения наступила глубокая депрессия, и не выходя из ступора, на фоне глубокого угнетения и снижения всех жизненных функций, все свинки пали во временном интервале 12-18 часов от пастереллезного сепсиса. К концу первых суток, с той же клиникой глубокого угнетения, пали три свинки зараженные культурой в 1 разведении и одна – во 2 разведении. Остальные заболевшие животные погибли в течение 2-4 суток с однотипной картиной глубокого угнетения от пастереллезного сепсиса.

По результатам заражения патогенность культуры *P. multocida* серовар А для морских свинок соответствует разведению 10^{-4} , а разведение 10^{-2} соответствует DCL.

I LD₅₀ штамм №12 = 4562 ж.м.к. < 18161 ж.м.к. < 72300 ж.м.к.

I LD₅₀ штамм №115 = 4228 ж.м.к. < 16830 ж.м.к. < 72300 ж.м.к.

Иммуногенность определяли на белых мышях введением цельного и разведенного, с шагом 3, безадьювантного и масляно-эмульгированного монобактерина. Половину мышей защищали 50×10^9 м.к. пастерелл штамма №12 и 60×10^9 м.к. штамма №115, при использовании безадьювантного монобактерина. При введении масляно-эмульгированного монобактерина ImD_{50} штамм №12 = $4,1 \times 10^6$ м.к.; – ImD_{50} штамм №115 = $4,9 \times 10^6$ м.к.

Выводы

1. Эпизоотическая и референтная культура *P. multocida* серовара А обладали сходными морфо-тинкториальными и культуральными свойствами. Возбудитель сбраживал с образованием кислоты без газа глюкозу, сахарозу, декстрозу, фруктозу, галактозу, маннит, ксилозу, а так же сорбит и дульцит, что характерно для серовара А, и может быть использовано как дополнительный тест при серовариантной идентификации.

2. Культуры *P. multocida* были патогенными и высоковирулентными для лабораторных животных – белых мышей, кроликов, морских свинок. Количественные показатели патогенности и вирулентности были достаточно близки и разница средних величин недостоверна. Однако штаммы достоверно отличались по показателям иммуногенности, для достижения устойчивости к гомологичному пробую необходимо меньше инактивированных клеток эпизоотической культуры штамм №12, чем референтного штамма №115.

Литература

1. Апатенко, В.М. Преволучія мікробів як епізоотологічний чинник [Текст] / В.М. Апатенко, В.Ф. Копієцький // Вет. медицина України. – 2008. – №4. – С. 11–12.
2. Вакцини і штами в системі профілактики захворювань молодняка с.-г. тварин [Текст] / В.А. Прискока [та ін.] // Наук. вісн. НАУ. Пробл. вет. медицини. – К., 1998. – № 11 – С. 142–144.
3. Власкина, О.В. Патоморфологическая характеристика патогенности *P. multocida* различных серовариантов и их неочищенных экзотоксинов [Текст]: автореф. дис... канд. вет. наук : 16.00.03 / О.В. Власкина. – М., 1999. – 23 с.
4. Высокопоясный, А.И. Респираторные болезни телят в промышленном животноводстве в условиях Краснодарского края [Текст] : автореф. дис... канд. вет. наук : 16.00.03 / А.И. Высокопоясный. – Краснодар, 2000. – 20 с.
5. Гембицкий, П.А. Химия этиленмина [Текст] / П.А. Гембицкий, Д.С. Жук, В.А. Каргин. – М.: Наука, 1966. – 256 с.
6. Гетманский, О.И. Некоторые аспекты борьбы со смешанными инфекциями молодняка сельскохозяйственных животных [Текст] / О.И. Гетманский, К.В. Якутин, Т.В. Рогова // Пробл. инфекц. патологии с.-х. животных : тез. докл. науч. конф. – Владимир, 1997. – С. 79–80.
7. Головка, А.Н. Современные подходы к конструированию бактериальных вакцин [Текст] / А.Н. Головка // Вісн. аграр. науки. – 1998. – № 11. – С. 33–36.
8. Джупина, С.И. Теория эпизоотического процесса – основа контроля инфекционных болезней животных [Текст] / С.И. Джупина // Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 27–29 жовтня 2004 р. – Одеса, 2004. – Ч. 1. – С. 11–19.
9. Лях, Ю.Г. Вакцинопрофилактика пастереллеза свиней и крупного рогатого скота в Республике Беларусь [Текст] / Ю.Г. Лях, А.Н. Андросик // Пробл. патологии, санитарии и бесплодия в животноводстве : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Мн., 1998. – С. 77.
10. Мазур, Т. Превентивна ефективність протипастерельозних комерційних вакцин відносно збудників серотипів А та D *P. multocida* [Текст] / Т. Мазур // Вет. медицина України. – 2004. – № 4. – С. 22–23.
11. Русалеев, В.С. Использование аминоктилэтиленмина для инактивации сальмонелл [Текст] / В.С. Русалеев, В.Ю. Кулаков // Вирус. болезни с.-х. ж-ных : тез. докл. всерос. науч.-практ. конф. – Владимир, 1995. – С. 225.
12. Стегний, Б.Т. Паразитоценотические ассоциации микроорганизмов при респираторном синдроме телят [Текст] / Б.Т. Стегний, А.И. Сосницкий // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2003. – С. 297–301.
13. Эмерджентность, чрезвычайные ситуации и зоонозы [Текст] / В.В. Макаров [и др.] // Вет. патология. – 2004. – № 3 (10). – С. 36–45.
14. Bahnemann, H.G. Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethylenimine [Text] / H.G. Bahnemann // Vaccine. – 1990. – Vol. 8, № 8. – P. 299–303.
15. Borkowska-Opaska B. Evaluation of the immunogenicity of the vaccine against *Pasteurella multocida* infections in calves [Text] / B. Borkowska-Opaska, A. Kedrak, M. Truszczynski // Bull. Vet. Inst. Pulawy. – 1999. – Vol. 43, № 2. – P. 155–166.

16. Hunt, M.L. The Molecular biology of *pasteurella multocida* [Text] / M.L. Hunt, B. Adier, K.M. Townsend // *Vet. Microbiol.* – 2000. – Vol. 72, № 1–2. – P. 3–25.
17. Identification of novel immunogens in *P. multocida* [Text] / K. Al-Hasani [et al.] // *Microb. Cell. Fact.* – 2007. – Vol. 18. – P. 3–6.
18. Townsend, K.M. Analysis of haemorrhagic septicaemia-causing isolates of *Pasteurella multocida* by ribotyping and field alternation gel electrophoresis (FAFE) [Text] / K.M. Townsend, H.J.S. Dawkins, J.M. Papadimitriou // *Vet. Microbiol.* – 1997. – Vol. 57, № 4. – P. 383–395.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІЗООТИЧНОЇ І РЕФЕРЕНТНОЇ КУЛЬТУРИ ЗБУДНИКА ПУЛЬМОНАЛЬНОГО ПАСТЕРЕЛЬОЗУ

Сосницький О.І., к. вет. н., доцент

Луганський національний аграрний університет

Анотація. У порівняльному аспекті вивчили біологічні властивості епізоотичної культури і референтного штаму *P. multocida*. Встановили тотожність морфо-тінкториальних, культуральних і біохімічних властивостей. Біологічні властивості штамів пастерел достовірно відрізняються по імуногенності і схожі по патогенності і вірулентності.

Ключові слова: *P. multocida*, епізоотична культура, референтний штам, патогенність, вірулентність, імуногенність.

DESCRIPTION OF EPIZOOTIC AND REVIEWER CULTURE OF EXCITER PULMONAL'S PASTERELLEZA

Sosnickiy A.I., cand. vet. sciences, associate professor

Lugansk national agrarian university

Summary. In a comparative aspect studied biological properties of epizootic culture and referens culture of *P. multocida*. Set the identity of morpho-tincture, culture and biochemical properties. Biological properties of cultures of *P. multocida* for certain differ on an adjuvanticity and similar on pathogenicity and virulence.

Key words: *P. multocida*, epizootic culture, reviewer culture, pathogenicity, virulence, adjuvanticity.