

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЖИВОТНЫХ БАКТЕРИОФАГАМИ ПРИ ПСЕВДОМОНОЗЕ

Пруцаков С.В., Болоцкий И. А., Семенцов В.И., Васильев А.К.

Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт, Россия

В статье приводятся данные эффективного использования различных специфических бактериофагов на лабораторных животных при псевдомонозе.

Введение. Из литературных источников известно и нашими исследованиями, проведенными в лаборатории эпизоотологии Краснодарского НИВИ доказано, что *P. aeruginosa* очень резистентна к фармакопрепаратам. Одним из методов специфической терапии является применение бактериофагов. Этот метод высокоспецифичен и в настоящее время широко используется в медицинской практике.

В ветеринарии значительные успехи достигнуты в фаготерапии колибактериоза и паратифа телят, поросят, пуллороза цыплят и др. [1,2].

Материалы и методы. Исследования выполняли по общепринятым методикам, изложенным в кратком определителе бактерий Берджи (1980), лабораторным методом исследований в ветеринарии (4 тома 1954, 1956 г.), «Основы биотехнологии ветеринарных препаратов» (1997 г.) авторы И.К. Тутов, В.И. Ситьков [3].

Результаты исследований и обсуждение. Как известно, одним из методов получения бактериофагов является фильтрация каловых масс животных. Мы в своей работе использовали 2 способа выделения бактериофага.

1. На свиноводческой ферме, где болели поросята, собрали кал от больных поросят, в лаборатории добавляли 1:2 МПБ и подвергли фильтрации через фильтр Зейца. Полученные фильтраты № 1 и 2 (по 5-6 мл) поместили в холодильник до последующего испытания.

2. В музее хранящихся культур в лаборатории эпизоотологии отобрали по 3-4 пробирки 5 культур, объединили их по принадлежности, слили вместе и профильтровали через фильтры Зейца (с помощью насоса Комовского). Получили 5 фильтратов № 3, 4, 5, 6, 7 (от культур № 9, 19, 31, 35, 40).

Затем сделали посевы на МПА и МПБ выделенных нами 18 изолятов и на них проверили наличие бактериофага в наших фильтратах по классической методике. Кроме того мы проверили два вида коммерческого бактериофага, выпускаемого ГУП «Иммунопрепарат» в г. Уфа под названием «Аеругинозофаг» и выпускаемый фирмой «Имбо» в г. Нижний Новгород.

Первый коммерческий препарат испытывали на 18 изолятах, выделенных от разных видов животных и хранящихся в музее лаборатории.

Второй коммерческий бактериофаг «Интенсти бактериофаг» испытывали на 23 культурах *P.aeruginosa*, выделенных от хряков-производителей племобъединения «Курганинское».

Таблица 1 – Результаты испытания бактериофагов, полученных из различных объектов

№ п/п	Бактериофаг полученный из:	Исследованы с культурами к-во	Положительных реакций (лизис)	Титр бактериофага
1.	Из кала	18	-	
2.	-/-	18	1	1:1
3.	Из музея № 9	18	1	1:4
4.	-/- № 19	18	1	1:2
5.	-/- № 81	18	1	1:2
6.	-/- № 35	18	-	-
7.	-/- № 40	18	-	-
8.	Аеругинозофаг	18	2	1:2
9.	Интенсти бакт.	23	14	1:2-1:10

Из данных таблицы видно, что вполне возможно получить бактериофаг путем отбора каловых масс больных поросят и отбора старых лизированных культур синегнойной палочки с последующей фильтрацией данных субстратов. Нами получено 4 культуры бактериофага из 7 объектов. Выделенные фаги имели строгую специфичность и проявляли свое литическое действие только на тех культурах, от которых они получены. Титры фага были невысокие ввиду низкой его концентрации в фильтрате.

При испытании коммерческих медицинских бактериофагов не все испытанные культуры были к ним чувствительны. Наиболее активным оказался бактериофаг «Интенсин абктериофаг» фирмы «Имбио», который проявил литическое действие на 14 культурах (61%). Второй бактериофаг «Аеругинозафаг» проявил свое действие только на 2-х культурах (11%) (№ 9 и 23), выделенных из спермы хряка и из кормов. Очевидно этиологическая структура псевдомоноза людей имеет существенное различие с таковой у животных.

После этих предварительных данных *in vitro* мы провели исследования на белых мышах. В опыте были использованы только бактериофаги давшие положительные предварительные результаты.

Белых мышей заражали по 6 шт. каждой патогенной культурой по 0,1 мл, а через 3 часа после заражения им вводили однократно внутрибрюшинно по 0,2 мл соответствующего бактериофага. Результаты отражены в таблице № 2.

Таблица 2 – Эффективность фагов при инфицировании мышей

Шифр культура бактериофага	Кол-во мышей в опыте	Доза мл / кол-во мышей	Заражено / пало		
			№ 09	№ 19	№ 31
2 (к)	6	0,2 x 6	2/2	2/2	2/2
3 –(9)	6	-/-	2/1	2/2	2/2
4-(19)	6	-/-	2/2	2/1	2/2
5-(31)	6	-/-	2/2	2/2	2/1
8-(Уфа)	6	-/-	2/2	2/2	2/2
9-(Н-Нов)	6	-/-	2/1	2/1	2/2
Контроль	6	-/-	2/2	2/2	2/2
Всего	42		14/12	14/12	14/13

Как видно из данных таблицы эффективность фагов была невысокой, из двух инфицированных мышей только по одной остались живы, причём, которым вводили фаг и использовали для их заражения гомологичные культуры. Из этого вытекает, что фаги имеют строгую специфичность. Фаг под № 9 «Интенсин бактериофаг» предохранил от падежа две мышки при заражении культурой № 09 и №19, очевидно в этом поливалентном фагопрепарате имелись аналогичные фагокультуры.

Таким образом, предварительные опыты *in vitro* и *in vivo* показали, что бактериофаги имеют строгую специфичность. Поливалентные фагопрепараты также способны защищать белых мышей от падежа, но только при инфицировании гомологичной культурой имеющейся в составе фага. Опыты по применению бактериофагов на животных необходимо продолжить.

Выводы. Установлено, что бактериофаги к *R.aeruginosa* можно выделить из кала животных, больных псевдомонозом, и из старых бульонных культур данного возбудителя путем фильтрации через фильтры Зейца. В пробирочных опытах и опытах на белых мышах установлено, что выделенные бактериофаги строго специфичны и лизируют только те культуры *R.aeruginosa*, от которых они выделены. В наших опытах фаги предотвращали от гибели белых мышей на 50% только при заражении гомологичной культурой.

Коммерческие медицинские полибактериофаги имеют активность 11-61% с возбудителями, изолированными от животных и из кормов.

Заключение. 1. Коммерческие медицинские полибактериофаги проявляли свою литическую активность в 11-61% с возбудителями от животных и из кормов.

2. Поливалентные фагопрепараты также способны защищать белых мышей от гибели, но только при инфицировании гомологичной культурой, от которой получен фаг.

Список литературы

1. Больных, В.Т. Псевдомоноз животных и их профилактика / В.Т. Больных, Е.А. Кирьянов, Н.В. Больных // Под ред. Е.А. Кирьянова. – Владивосток. – Дальневосточное книжн. издат. – 1987. – С. 37-43.
2. Васильев, А.К. «Псевдомоноз свиней в Краснодарском крае. Автореферат кандидатской диссертации. – Краснодар. – 2003.
3. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению псевдомоноза сельскохозяйственных животных, М. – 2003.

SPECIFIC THERAPY OF ANIMALS BY BACTERIOPHAGES AT PSEUDOMONOSIS

Prutsakov S.V., Bolotskiy I.A., Sementsov V.I., Vasilyev A.K.
Krasnodar Scientific Research Veterinary Institute, Russia

Data on effective use of various preparations and specific bacteriophages on laboratory animals and pig at pseudomonos storage is presented in the paper.

УДК 619:578.831.1:616-079.4

ВИРУС НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ, ВЫЯВЛЕННЫЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ ДИКИХ И СИНАНТРОПНЫХ ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ В 2008 ГОДУ

Пчёлкина И.П., Колосов С.Н., Манин Т.Б., Чвала И.А., Андриясов А.В.,
Старов С.К., Дрыгин В.В., Борисов А.В.

ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия

Представлены результаты выявления вируса ньюкаслской болезни (ВНБ) из 1368 проб, отобранных в ходе мониторинговых мероприятий от диких и синантропных птиц в различных регионах России в 2008 году. Методом ОТ-ПЦР с последующим секвенированием фрагмента гена F было выявлено 29 изолятов ВНБ. Показано, что на территории России встречались низковирулентные варианты ВНБ генотипов I и II, а также высоковирулентные варианты ВНБ генотипа VIb «голубиной» линии VIb/2 и генотипа VIIд.

Ньюкаслская болезнь (НБ) относится к особо опасным болезням птиц. Возбудителем НБ является парамиксовирус птиц серотипа 1 (APMV-1), принадлежащий одному из девяти известных серотипов парамиксовирусов птиц. Все APMV объединены в род *Avulovirus* семейства *Paramyxoviridae* порядка *Mononegavirales* [7].

Ньюкаслская болезнь в основном поражает кур. Заболевание у кур может значительно варьировать по своей тяжести от бессимптомной инфекции до тяжелого системного заболевания, приводящего к высокой смертности [4]. Тяжесть заболевания непосредственно связана с вирулентностью штамма вируса. Некоторые низковирулентные штаммы широко используются в ветеринарной практике в качестве живых вакцин.

Успех борьбы с болезнью зависит от своевременной и полной диагностики. Использование комплекса молекулярно-биологических методов позволяет быстро и эффективно решать задачи лабораторной диагностики НБ: выявления вируса и его характеристики в отношении вирулентности и групповой принадлежности.

Основным молекулярно-генетическим маркером вирулентности ВНБ является аминокислотная последовательность сайта расщепления белка F_0 [4]. Критерий структуры сайта расщепления белка F_0 в 1999 году был признан МЭБ в качестве альтернативы определению вирулентности в опытах на животных.

Вирус ньюкаслской болезни обладает высоким уровнем генетического разнообразия [2, 5, 6, 8], хотя в серологическом отношении считается, что все штаммы