

На правах рукописи

Жонголович Анна Евгеньевна

**ЭТИО-ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
МИКОПЛАЗМОЗА СВИНЕЙ И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ
МЕТОДОВ ЕГО ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ**

Жонголович

16.00.03. — ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Омск — 2008

Работа выполнена в институте ветеринарной медицины Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Красиков Александр Пантелеевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Плешакова Валентина Ивановна

доктор ветеринарных наук, профессор
Бажин Михаил Аристоклеви

Ведущее учреждение: Институт экспериментальной ветеринарии
Сибири и Дальнего Востока (ИЭВС и ДВ)

Защита состоится 23 декабря 2008 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д. 220.050.03 при ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» в институте ветеринарной медицины по адресу: 644122, г. Омск-122, ул. Октябрьская, 92, тел.: 24-15-35, тел./факс: 23-30-31 (для Н.П. Жабина).

E-mail : ivm_omgau@omsknet.ru
www/omgau.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института ветеринарной медицины ОмГАУ.

Автореферат разослан « 21 » нояб 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, доцент



Н.П. Жабин

1. Общая характеристика работы

Актуальность темы. Развитие свиноводства на промышленной основе заострило в числе многих других проблему сохранения репродуктивных способностей маточного стада. Экономический ущерб от микоплазмоза обусловлен снижением массы тела животных, потерей племенных качеств, замедлением роста и развития, низкой оплатой корма, появлением заморышей, гибелью поросят и значительными затратами на лечение и оздоровительные мероприятия.

В данное время широко дискутируется вопрос о первостепенной роли микоплазм в патогенезе заболеваний со смешанной этиологией, их сочетании с другими бактериями и вирусами. Общего ответа быть не может, но микоплазмы, являясь самостоятельной группой, в содружестве с другими микроорганизмами усиливают свое патогенное действие (Г.Г. Миллер, И.В. Раковская, 1991; А.Я. Пустовар, 1995; П.П. Фуке, 1995). Особое значение это явление приобрело в последние годы, т.к. в условиях хозяйств все чаще одновременно обнаруживаются несколько инфекций. Микоплазмоз повышает восприимчивость свиней к вторичным инфекциям, что делает его течение более тяжелым, зачастую приводя к гибели.

Лабораторная диагностика микоплазмозов требует усовершенствования, так как при выделении возбудителей этих болезней используют сложные микробиологические методы, пока еще не доступные для большинства лабораторий (Фуке П.П., Калащник Н.В., 1995; Гречухин, А.Н., 1997).

В связи с этим весьма актуальным является проведение своевременной диагностики микоплазмоза в ассоциации с сопутствующими микроорганизмами, что позволит выявлять больных животных, носителей и разрабатывать меры по борьбе с этим заболеванием. Все это послужило основанием для проведения данных исследований.

Цель работы. Усовершенствовать экспресс-методы диагностики микоплазмоза свиней, в том числе при ассоциативных формах его проявления и разработать схемы лечения больных животных.

Задачи исследований:

- изучить эпизоотическую ситуацию по микоплазмозу свиней и ассоциативным формам его проявления в хозяйствах Омской и Тюменской областей;
- изучить культуральные, морфологические, биохимические и патогенные свойства выделенных от свиней микоплазм;
- разработать и испытать в производственных условиях экспресс-методы диагностики микоплазмоза свиней и его ассоциативных форм проявления, а также эффективные и рациональные схемы лечения, дать им экономическое обоснование.

Научная новизна. Выявлена широкая распространенность в хозяйствах Омской и Тюменской областей микоплазмоза свиней, в том числе в ассоциациях с некоторыми другими инфекциями. Изучены основные свойства микоплазм, выделенных от свиней. Усовершенствованы экспресс-методы диагностики микоплазмоза: микробиологический – с помощью специальных

питательных сред для индикации и идентификации микоплазм и уреоплазм и серологические - для выявления микоплазм и их антигенов в биоматериале, а также антител в сыворотке крови с помощью РНИФ и РНГА.

Получены приоритетные справки № 2007135196 / 13 (038479) от 21.09.2007 г. на способ получения микоплазмозных диагностических сывороток для реакции непрямо́й иммунофлуоресценции (РНИФ) путем гипериммунизации кроликов и № 2007135195 / 15 (038478) от 21.09.2007 г. на способ получения эритроцитарного диагностикума для реакции непрямо́й гемагглютинации (РНГА) при микоплазмозе свиней, а также уведомления о положительном результате формальной экспертизы от 07.11.2007 г.

Разработаны научно-обоснованные рациональные схемы лечения свиней при микоплазмозе с учетом его ассоциативных форм.

Теоретическая и практическая значимость работы. Материалы диссертации вносят определенный вклад в развитие науки микоплазмологии и микопаразитологии.

Разработанные методики дают возможность получать микоплазмозные антигены и антисыворотки для РНИФ и эритроцитарный диагностикум для РНГА. Применение экспресс-методов диагностики, отраженных в методических рекомендациях «Экспресс-методы диагностики микоплазмоза свиней» позволит своевременно выявлять больных животных и микоплазмозоносителей, и разрабатывать меры борьбы и профилактики, контролировать эпизоотическую обстановку по данной инфекции. Применение разработанных схем лечения при микоплазмозе свиней, в том числе и в ассоциации с другими инфекциями, создаст условия для более эффективного проведения мероприятий по борьбе с данной болезнью.

Апробация работы. Материалы исследований доложены и обсуждены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ «Проблемы ветеринарной и зоотехнической наук и пути их решения» (Омск, 2006-2008), Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных» (Омск, 2006, СО РАСХН ВНИИБТЖ), Международной научной конференции «Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных» (Ульяновск УГСХА, 2006), Межрегиональной научно-практической конференции «Патология сельскохозяйственных животных и пути её профилактики» (Омск, 2007, СО РАСХН ВНИИБТЖ), 7-ой Межрегиональной научно-практической конференции «Диагностика, лечение и профилактика болезней животных в условиях Сибири и Урала» (Омск, 2008, СО РАСХН ВНИИБТЖ).

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 7 научных статей, в том числе одна в научном журнале, рекомендованном ВАК Минобрнауки и науки РФ («Ветеринарная патология»).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов,

практических предложений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 39 таблицами и 13 рисунками. Список литературы включает 218 источников, в том числе 90 зарубежных авторов.

Внедрение результатов исследований. Результаты исследований для практического применения отражены в методических рекомендациях: «Экспресс – методы диагностики микоплазмоза свиней» (Утверждены Ученым советом ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, протокол № 9 от 28.05.2008 г., секцией животноводства Центра научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области, протокол № 4 от 05.06.2008 г. и подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, протокол № 2 от 30 июня 2008 г.).

Материалы диссертации внедряются в хозяйствах Омской и Тюменской областей и используются в учебном процессе кафедр эпизоотологии и инфекционных болезней, микробиологии, вирусологии и иммунологии института ветеринарной медицины ОмГАУ, институте повышения квалификации руководителей и специалистов АПК ОмГАУ, а также в курсе лекций Тюменского института переподготовки кадров агробизнеса.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Распространение микоплазмоза свиней и ассоциативных форм его проявления в хозяйствах Омской и Тюменской областей.
2. Усовершенствованные экспресс-методы диагностики микоплазмоза свиней.
3. Результаты экспериментального изучения различных схем лечения и методы лабораторного контроля их эффективности при микоплазмозе свиней и ассоциативных формах его проявления.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы

Тема диссертационной работы является составной частью комплексной государственной программы «Профилактика (диагностика) и меры борьбы с ассоциативными инфекционными и инвазионными болезнями животных и птиц» (№ гос. регистрации 01.2.001100602).

Исследования проводились в лаборатории микстинфекций кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней ИВМ ОмГАУ, в лаборатории зоонозных инфекций НИИПОИ Роспотребнадзора, в Омской областной ветеринарной лаборатории и хозяйствах Омской и Тюменской областей.

Объектом исследований являлись свиньи различных возрастных групп с выраженными клиническими признаками пневмонии, артритов, эндометритов и конъюнктивитов.

Материалом для исследований служили пробы сыворотки крови, цервико-вагинальной слизи, носовых истечений, суставной жидкости, патологический материал от погибших животных и абортированных плодов.

Для диагностики использовали эпизоотологические, клинические, патологоанатомические и лабораторные методы.

Микробиологические исследования проводили, используя разработанные совместно с ФГУ Омского НИИПОИ, жидкие и твердые питательные среды для индикации и идентификации микоплазм и уреоплазм. Микроскопирование проводили при помощи светового микроскопа «Ломо» (х 900). Для видового определения микоплазм использовали ключ Gourlay and Howard (1979).

Для серологических исследований применяли реакцию непрямой геммагглютинации – для обнаружения антител в сыворотке крови животных, реакцию непрямой иммунофлуоресценции – для выявления антител и антигенов в пробах био- и патологического материала, полученного от вынужденно убитых и погибших животных. Фиксацию мазков проводили по методу Модис с соавт. (1958), а постановку РНИФ по методике, предложенной Уэллером и Кунсом (1945).

Для проведения исследований применяли стандартные антигены, используемые для постановки РА и РСК, и полученные нами микоплазмозные антигены, а в качестве антител – гомологичные антигенам кроличьи и свиные антисыворотки, антивидовые для РНИФ и специфические сальмонеллезные, листериозные для РПИФ люминесцентные сыворотки меченные ФИТЦ (ИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи), а также полученные нами микоплазмозные, уреоплазмозные кроличьи сыворотки и изготовленные ранее в лаборатории микстинфекций против хламидиоза, пастереллеза, диплококкоза (Лобанова Н.В., 2004).

Люминесцентную микроскопию проводили с помощью микроскопа ЛЮМАМ Р-8 при увеличении в 900 раз. Степень флуоресценции антител оценивали по 4-х крестной системе (Вайтекер и др., 1958).

Для изготовления эритроцитарного диагностикума для РНГА в качестве клеточной основы использовали эритроциты барана, а для стабилизации 20%-й р-р формальдегида. Фиксацию эритроцитов проводили по методу Фили в модификации Красикова А.П. (2002).

Для диагностики микоплазмоза методом полимеразной цепной реакции использовали тест-систему «МИК-КОМ» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва. ПЦР-диагностику проводили на базе Омской областной ветеринарной лаборатории совместно с сотрудниками молекулярно-диагностического отдела Хатько Н.Ф., Ковалевской А.А.

Расчёт экономической эффективности проводили по методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утвержденной Департаментом ветеринарии РФ 21.02.1997 г. Статистическую обработку материалов проводили согласно методам математической статистики, принятым в биологии и медицине с использованием таблиц Стьюдента (А.Т. Усович, П.Т. Лебедев, 1970), а также с помощью программы Microsoft Excel 2000.

2.2. Изучение эпизоотической ситуации по микоплазмозу свиней и ассоциативным формам его проявления в хозяйствах Омской и Тюменской областей

По результатам проведенных исследований было установлено, что микоплазмоз свиней имеет широкое распространение в хозяйствах Омской и

Тюменской областей (табл. 1,2 и 3), причем доля микоплазмоза в ассоциациях значительно больше, чем других инфекций.

Таблица 1

Распространение микоплазмоза и ассоциативные формы его проявления у свиноматок

Хозяйства	К-во проб	Инфицировано, (%). Матр. р < 0,05								
		лепт	лист	хлам	энтерок	сальм	паст	дипл	мик	в т.ч уреа
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ЛПХ Ефремова М.Н.	20	0,0	20,0±8,9	0,0	-	-	10,0±6,7	-	70,0±10,2	25,0±9,7
ЗАО Рось	10	30,0±14,5	0,0	20,0±12,6	10,0±9,5	50,0±15,8	30,0±14,5	20,0±12,6	90,0±9,5	60,0±15,5
АК Ударный	10	0,0	20,0±12,6	40,0±15,5	-	10,0±9,5	0,0	-	80,0±12,6	50,0±15,8
ООО Титан*	10	0,0	10,0±9,5	0,0	-	30,0±14,5	30,0±14,5	-	90,0±9,5	40,0±15,5
ЗАО Новоазовское	20	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0	90,0±6,7	50,0±11,2
ЗАО Кам.Курское	20	0,0	0,0	25,0±9,7	-	25,0±9,7	0,0	0,0	70,0±10,2	55,0±11,1
ООО Атлант	10	30,0±14,5	50,0±15,8	30,0±14,5	-	50,0±15,8	30,0±14,5	-	90,0±9,5	60,0±15,5
СПК им. Чапаева	20	0,0	15,0±7,9	20,0±8,9	-	35,0±10,6	30,0±10,2	-	85,0±7,9	40,0±10,9
КФХ Вохмина Е.Е.	20	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	-	60,0±10,9	35,0±10,6
КХ Трейзе В.Ф.	20	10,0±6,7	0,0	5,0±4,8	-	40,0±10,9	35,0±10,6	-	70,0±10,2	35,0±10,6
Рошино	7	0,0	0,0	57,1±18,7	-	42,8±18,7	0,0	0,0	57,1±18,7	57,1±18,7
Всего (11)	167	23,3±3,2	23,0±3,2	28,1±3,4	10,0±2,3	35,2±3,7	27,5±3,4	20,0±3,1	77,4±3,2	46,1±3,8

Примечание: сальм - сальмонеллы, паст - пастереллы, хлам - хламидии, лепт - лептоспиры, лист - листерии, дипл - диплококки, энтерок - энтерококки, мик - микоплазмы, в т.ч. уреа - в том числе уреаплазмы, -- не исследовали.

1 - ЛПХ Ефремова М.Н. Калачинского р-на Омской обл.; 2 - ЗАО «Рось» Калачинского р-на Омской обл.; 3 - ООО «Агрокомплекс Ударный» Горьковского р-на Омской обл.; 4 - ООО «Группа компаний Титан»* - материал получен из РК; 5 - ЗАО «Новоазовское» Азовского р-на Омской обл.; 6 - ЗАО «Кам.Курское» Муромцевского р-на Омской обл.; 7 - ООО «Атлант» Бердского р-на Тюменской обл.; 8 - СПК им. Чапаева Казанского р-на Тюменской обл.; 9 - КФХ Вохмина Е.В. Ишимского р-на Тюменской обл.; 10 - КХ Трейзе В.Ф. Ишимского р-на Тюменской обл.; 11 - «Рошино» Тюменского р-на Тюменской обл.; 12 - Еремеевское Полтавского р-на Омской обл.; 13 - ОАО «ОПХ СибМИС» Таврического р-на Омской обл.; 14 - ООО «Комплекс» Исетского р-на Тюменской обл.; 15 - ЗАО «Согласие» Заводоуковского р-на Тюменской обл.

Так, при комплексном обследовании свиноматок из разных хозяйств наиболее насыщенный микробный пейзаж был выявлен в ЗАО «Рось», ООО «Атлант» (табл. 1). Высокую инфицированность свиноматок микоплазмами и уреаплазмами наблюдали в ООО «Агрокомплекс Ударный» (80%), ООО «Титан» (90%), ЗАО «Кам. Курское» (70%), ЛПХ Ефремова М.Н. (70%), СПК им. Чапаева (85%), КХ Трейзе В.Ф. (70%), а также в «Рошино» (57,1%).

В КФХ Вохмина Е.Е. и в ЗАО «Новоазовское» микоплазмоз был обнаружен в виде моноинфекции у 60% и 90% свиноматок соответственно.

Таблица 2

Распространение микоплазмоза и ассоциативные формы его проявления у поросят

Хозяйства	Кол-во проб	Инфицировано, (%), M±m, p < 0,05								
		лепт	лвст	хлам	энтерок	сальм	паст	дипл	мик	в т ч уреа
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
АК Ударный	40	0,0	20,0± 6,3	40,0± 7,7	70,0± 7,2	70,0± 7,2	70,0± 7,2	60,0± 6,3	82,0± 6,1	65,0± 7,5
ООО Титан	10	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0± 12,6	30,0± 14,5	0,0	80,0± 12,6	40,0± 15,5
ЗАО КамКурское	25	20,0± 8,0	40,0± 9,8	20,0± 8,0	-	40,0± 9,8	56,0± 9,9	-	100,0± ±0,0	48,0± 9,9
ООО Атлант	10	0,0	20,0± 12,6	0,0	10,0± 9,5	30,0± 14,5	0,0	0,0	80,0± 12,6	20,0± 12,6
СПК им. Чапаева	10	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0± 12,6	20,0± 12,6	10,0± 9,5	90,0± 9,5	40,0± 15,5
КФХ Вохмин Е.Е.	20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0± 9,7	35,0± 10,6
КХ Трейзе В.Ф.	20	0,0	0,0	0,0	0,0	15,0± 7,9	20,0± 8,9	0,0	65,0± 10,6	40,0± 10,9
ООО Комплекс	9	0,0	0,0	11,1± 10,5	-	0,0	0,0	0,0	66,6± 15,7	44,4± 16,5
Всего (8)	144	20,0± 3,3	26,6± 3,7	23,7± 3,5	40,0± 4,1	32,5± 3,9	39,2± 4,0	35,0± 3,9	79,8± 3,3	41,5± 4,1

Таблица 3

Инфицированность микроорганизмами патологического материала от погибших или вынужденно убитых свиней и аборттированных плодов

Хозяйства	К-во проб	Инфицировано, (%), М±m, p < 0,05								
		лепт	лист	хлам	энтерок	сальм	паст	дипл	мик	в т ч уреа
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
АК Ударный	9	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1± 10,5	11,1± 10,5	0,0	22,2± 13,8	11,1± 10,5
Еремеевское	12	0,0	0,0	0,0	-	41,6± 14,2	16,6± 10,7	-	33,3± 13,6	8,3± 7,9
ОПХ СибМИС*	7	0,0	0,0	0,0	0,0	14,3± 13,2	0,0	0,0	57,1± 18,7	42,8± 18,7
СПК им. Чапаева	20	0,0	10,0± 6,7	15,0± 7,9	-	25,0± 9,7	15,0± 7,9	-	85,0± 7,9	45,0± 11,1
КФХ Вохмин Е.Е.	20	0,0	0,0	0,0	-	30,0± 10,2	25,0± 9,7	-	65,0± 10,6	30,0± 10,2
КХ Трейзе В.Ф. *	20	5,0± 4,9	10,0± 6,7	0,0	-	25,0± 9,7	25,0± 9,7	-	80,0± 8,9	30,0± 10,2
Рощино	8	0,0	0,0	12,5± 11,7	-	0,0	0,0	-	50,0± 17,7	25,0± 15,3
ООО Комплекс	8	0,0	12,5± 11,7	0,0	-	0,0	0,0	-	12,5± 11,7	0,0
Согласие	7	14,2± 13,2	14,2± 13,2	14,2± 13,2	-	0,0	14,2± 13,2	-	28,5± 17,0	14,2± 13,2
Всего (9)	111	9,6± 2,8	11,6± 3,0	13,9± 3,3	0,0	24,5± 4,1	17,8± 3,6	0,0	48,2± 4,7	25,8± 4,1

Примечание: * - абортированные плоды.

При исследовании биоматериала от поросят наиболее пестрый микробный пейзаж наблюдали в ООО «АК Ударный», ЗАО «Кам. Курское» (табл. 2). Высокая инфицированность микоплазмами поросят также была в

ООО «Титан» (80%), ООО «Атлант» (80%), СПК им. Чапаева (90%), КХ Трейзе В.Ф. (65%), ООО «Комплекс» (66,6%).

В виде моноинфекции микоплазмоз поросят был зарегистрирован в одном хозяйстве КФХ Вохмин Е.В. (75%).

При исследовании проб патологического материала от погибших или вынужденно убитых свиней и аборт-плодов (табл.3) наибольшая инфицированность органов микоплазмами и уреаплазмами наблюдалась в СПК им. Чапаева (85%), КХ Трейзе (80%), КФХ Вохмин (65%).

Таким образом, по результатам комплексных исследований хозяйств Омской и Тюменской областей установлено, что микоплазмоз свиней имеет широкое распространение. Из 15 обследованных хозяйств микоплазмоз был обнаружен во всех, при этом в виде моноинфекции он был зарегистрирован в двух хозяйствах (13%), а в остальных носил ассоциативный характер.

2.3. Микробиологические методы диагностики

микоплазмоза свиней

2.3.1. Индикация и идентификация микоплазм на питательных средах

Для выделения микоплазм на питательных средах брали для исследования цервико-вагинальные смывы и соскобы со слизистой оболочки влагалища у супоросных свиноматок, а также после опороса, жидкость из пораженных суставов, носовые истечения у поросят, а также паренхиматозные органы (печень, почки, селезенку, легкие, сердце, лимфатические узлы), абортированные плоды.

Для культивирования посевов использовали жидкие и плотные питательные среды для индикации и идентификации глюкозоферментирующих, аргининзависимых микоплазм и уреаплазм.

Посевы на средах инкубировали при 37°C в течение 48-96 часов, учет роста проводили визуально по изменению цвета среды.

Для более подробного изучения культуральных свойств микоплазм, культуры, выросшие на жидких питательных средах, пересевали на аналогичные плотные среды, содержащие 1,3% агара Дифко. Посевы инкубировали при 37-38°C в течение 5 суток. Чашки просматривали под малым увеличением микроскопа (х 45-70) через 24-72 часа и на 5-е сутки инкубации.

На плотных средах микоплазмы представляют собой круглые, не сливающиеся друг с другом колонии, которые имеют характерный вид «яичницы-глазуньи» с врастающим в агар центром и более нежной поверхностной периферией. Встречаются зернистые колонии без выраженной центральной зоны. Культуры штаммов рода *Mycoplasma* образуют колонии размером 0,5-3,0 мм. Размер колоний уреаплазм не превышает 0,05-0,5 мм.

Для учета титра микоплазм использовали метод титрации цветообразующей единицы, на жидкой индикаторной среде готовили 10-кратные разведения микоплазм. Инкубировали при 37°C в течение трех суток. Наибольшее разведение микоплазм, при котором изменяется цвет среды, рассматривается как конечная точка титрации, содержащая одну ЦОЕ. Также

вели подсчет колонеобразующих единиц в 0,1 мл 10-кратных разведений исходной культуры. Результаты учитывали подсчетом колоний на плотной среде, допуская, что каждая колония получена из одной клетки. Подсчитав количество колоний, определяли количество единиц, образующих колонии.

Таким образом, питательные среды, разработанные Омским НИИ ПОИ Роспотребнадзора совместно с ИВМ ОмГАУ, можно применять и для диагностики микоплазмоза свиней. Наряду с индикацией они позволяют проводить и идентификацию микоплазм и уреоплазм по основным показателям: ферментация глюкозы, гидролиз аргинина и разложение мочевины, а также посредством титрации оценивать степень их накопления в ЦОЕ и КОЕ.

2.3.2. Основные биологические свойства микоплазм

2.3.2.1. Морфологические свойства

При изучении тинкториальных и морфологических свойств микоплазм и уреоплазм готовили мазки из трёхсуточных культур, высушивали их на воздухе, фиксировали метиловым спиртом или ацетоном в течение 5-10 минут и окрашивали краской Романовского – Гимзе (разведенной буферным раствором pH 7,2 в соотношении 1:3) в течение 3-4 часов. Затем мазок промывали и просматривали под иммерсионной системой микроскопа. Микоплазмы полиморфны, преимущественно кокко-овоидно-палочковидной или разветвленной формы размером 0,3-0,5 мкм розово-фиолетового оттенка. Могут встречаться и фиолетовые шары размером 3-6 мкм, единичные палочки (2-5 мкм), скопления зернистой и гомогенной массы с синеватым оттенком. Микоплазмы грамотрицательные, красного цвета.

2.3.2.2. Биохимические свойства

Видовую принадлежность выделенных от свиней культур микоплазм определяли по биохимическим свойствам. Изучали ферментацию глюкозы, гидролиз аргинина, разложение мочевины (на диагностических жидких и плотных питательных средах при культивировании микоплазм и уреоплазм), протеолитическую активность, редукцию тетразола, фосфатазную активность, образование пленки и пятен.

Выделенные от свиней культуры были отнесены к: *M.hyorhinis*, *M.hyosynoviae*, *Ureaplasma* sp. (табл. 4).

Таблица 4
Морфологические и биохимические свойства микоплазм, выделенных от свиней

Род и вид	Морфология микоплазм	Ферментация глюкозы	Гидролиз аргинина	Уреазная активность	Пленка и пятна	Редукция тетразола	Протеолитич. активность	Фосфат. активность
<i>M.hyorhinis</i>	Очень короткие палочки, редко с ответвлениями	+	-	-	-	+	-	+
<i>M. hyosynoviae</i>	Кокковидные формы, короткие палочки	-	+	-	+	-	-	-
<i>Ureaplasma</i> sp.	Сферические, иногда почкующиеся клетки	-	-	+	-	-	+	-

2. 3. 2. 3. Патогенные свойства

Для изучения патогенных свойств заражали мышей микоплазмами, выделенными от свиней. Использовали 20 белых мышей, которых разделили на 4 группы по 5 голов в каждой. Животным 1-й группы вводили антиген из *M.hyorhinis*, 2-й - *M.hyosynoviae*, и 3-й - *Ureaplasma* sp., 4-я группа служила контролем. В течение 10 дней после заражения погибло 3 мыши, зараженные *M.hyorhinis*, по 2 мыши - *M.hyosynoviae* и *Ureaplasma* sp. Остальные особи, в том числе контрольной группы, на 10 сутки были девитализированы, а их внутренние органы исследованы микробиологическим методом. По результатам исследований летальность мышей при заражении их *M.hyorhinis* составила 60%, *M.hyosynoviae* и *Ureaplasma* sp. - 40%, при индексе инфицированности 76, 76 и 84 соответственно.

2.4. Серологические методы диагностики микоплазмоза

2.4.1. Получение микоплазмозных антигенов и диагностических антисывороток для РНИФ

Микоплазмозные антигены и гипериммунные антисыворотки против полевых штаммов микоплазм, выделенных от свиней, получали с целью использования их в РНИФ.

Антигены готовили из трехсуточных культур микоплазм (*M.hyorhinis*, *M.hyosynoviae* и *Ureaplasma* sp.), которые отмывали от питательной среды путем центрифугирования при 6 тыс/об 30 минут, осадок после трехкратного ресуспензирования и последующего центрифугирования разводили до концентрации 1,7 млрд. м.т. в 1 мл по бактериальному стандарту мутности (ГИСК им. Тарасевича Л.А.).

Гипериммунизацию кроликов проводили по схеме D. Schimmel, в модификации А.П. Красикова, Н.Н. Новиковой, (2000) путем дробной внутривенной инокуляции микоплазмозного антигена каждые 3-4 дня с применением иммуностимулятора левамизола подкожно при первых двух введениях антигена. Для этого 6 кроликов весом 2,5-3 кг, разделили их на 3 группы по 2 головы на каждую культуру. На 7, 14, 21 и 30 сутки после гипериммунизации изучали динамику синтеза антител в РНИФ, учет реакции проводили в крестах, свечение менее чем на два креста считали отрицательным.

Установлено, что на 7-й день после первого введения антигена антитела в РНИФ выявлялись в низких титрах 1:10 - 1:20. На 14-й день положительная реакция в РНИФ была при более высоких разведениях в пределах 1:320 - 1:640, а на 21-е и 30-е сутки синтез антител достиг максимального уровня 1:640 - 1:1280.

2.4.2. Изучение специфичности и активности сывороток и антигенов в РНИФ

Для определения активности и специфичности, полученных нами микоплазмозных антигенов и гипериммунных сывороток в РНИФ использовали убитые антигены в концентрациях 250, 500 млн. м.т. и 1 млрд. м.т., и сыворотки

в разведениях от 1:10 до 1:640. Для изучения специфичности микоплазмозных антигенов в РНИФ применяли микоплазмозные сыворотки, а также сыворотки против хламидиоза, лептоспироза, листериоза, сальмонеллеза, пастереллеза в разведении 1:10.

Микоплазмозные антигены показали высокую специфичность. Положительная реакция отмечалась только с гомологичными кроличьими антисыворотками. Наилучшая активность микоплазмозных антигенов в РНИФ проявлялась в концентрации 500 млн. м.т.

Была установлена высокая внутривидовая специфичность полученных микоплазмозных антисывороток в РНИФ, которые реагировали только с гомологичными антигенами и были активны во всех разведениях.

2.4.3. Изготовление микоплазмозного эритроцитарного диагностикума (МЭД) для реакции непрямой гемагглютинации

Приготовление эритроцитарного диагностикума проводили в несколько этапов: дробная формализация эритроцитов барана; получение антигена из трех культур микоплазм; сенсибилизация формализированных эритроцитов антигеном; трехкратное отмывание диагностикума буферным раствором.

Постановку РНГА проводили по следующей методике: испытуемые сыворотки разводили в двукратной последовательности фосфатно-буферным раствором (рН- 6,4), начиная с 1:25. К каждому разведению добавляли по одной капле (0,05 мл) МЭД, перемешивали встряхиванием и оставляли при комнатной температуре на 1,5-2 часа. Реакцию оценивали по четырехкрестной системе. Конечным титром считали последнее разведение сыворотки, дающее гемагглютинацию на три креста.

2.4.3.1. Изучение специфичности и активности МЭД в РНГА

Для изучения специфичности и активности полученного МЭД проводили постановку РНГА в объеме 0,5 мл в полистироловых пластинках, с микоплазмозными (Г, А, У и смешанной Г+А+У) сыворотками в разведениях от 1:10 до 1:640. В качестве контроля использовали фосфатный буферный раствор (рН - 6,4) и заведомо отрицательные и положительные на микоплазмоз сыворотки: свиные в разведениях 1:25-1:1600 и кроликов в разведениях 1:10-1:640.

Для контроля специфичности полученного МЭД ставили РНГА с гетерологичными сыворотками. МЭД в РНГА не вызывает перекрестных реакций с бруцеллезной, пастереллезной, лептоспирозной, листериозной, сальмонеллезной и хламидиозной гетерологичными сыворотками, при четко выраженных положительных реакциях с гомологичными микоплазмозными сыворотками.

Для контроля активности полученного МЭД проводили постановку РНГА с кроличьими микоплазмозными сыворотками, а также с положительными и отрицательными на микоплазмоз свиными сыворотками. С микоплазмозными сыворотками по отдельности и со смешанной сывороткой против трех видов микоплазм полученный диагностикум реагирует на три креста до разведения

1:160. В контроле с негативной сывороткой и буферным раствором положительные реакции отсутствуют.

Таким образом, полученный МЭД высокоспецифичен и обладает достаточной активностью в РНГА при микоплазмозе свиней. Его можно использовать для обнаружения антител к микоплазмам в сыворотке крови больных свиней и микробоносителей, принимая за диагностический титр разведение исследуемой сыворотки 1:25.

2.4.4. Сравнительная оценка диагностической ценности микробиологического и серологических (РНИФ, РНГА) методов диагностики микоплазмоза свиней в производственных условиях

Для изучения чувствительности РНИФ в сравнении с микробиологическим методом исследовали биоматериал от больных животных, а также патологический материал от погибших, вынужденно убитых свиней и абортированных плодов.

При исследовании цервика-вагинальной слизи от свиноматок на питательных средах глюкозоферментирующие микоплазмы выделялись в среднем в 42% случаев, аргининзависимые микоплазмы в 21% и уреаплазмы в 29%, а в РНИФ – в 49%, 33% и 41% соответственно.

При исследовании проб цервика-вагинальной слизи и сыворотки крови при помощи микробиологического метода, РНИФ и РНГА определяли количественные показатели (ЦОЕ, КОЕ) микоплазм на питательных средах и титр микоплазмозных антител в крови в РНИФ и РНГА. При сравнительном анализе титра антител и количеством выделяемых на питательных средах микоплазм, в большинстве случаев обнаруживается прямая пропорциональная зависимость, т. е., чем больше возбудителя в исследуемом материале, тем выше титр антител в крови животного.

При исследовании носовой слизи от поросят на питательных средах *M. hyorhinis* была обнаружена в 42% случаев, *M. hyosynoviae* в 28% и *Ureaplasma* в 26%, а в РНИФ – 59%, 48% и 34% соответственно. При исследовании суставной жидкости от поросят на питательных средах *M. hyorhinis* была выделена в 33% случаев, *M. hyosynoviae* в 30% и *Ureaplasma* в 26%, а в РНИФ – 40%, 50% и 30% соответственно.

При исследовании патологического материала от свиней на питательных средах глюкозоферментирующие микоплазмы выявлялись в 16% случаев, аргининзависимые микоплазмы в 9% и уреаплазмы в 14%, а в РНИФ – 27%, 12% и 25% соответственно.

Таким образом, РНИФ не уступает по чувствительности микробиологическому методу исследования, а в некоторых случаях даже превосходит его. РНИФ позволяет в течение одного часа поставить диагноз на микоплазмоз. Кроме того, с помощью данного метода можно одновременно с индикацией микоплазм определять и их принадлежность к *M. hyosynoviae*, *M. hyorhinis* и *Ureaplasma* sp.

Для изучения чувствительности РНИФ и РНГА при диагностике микоплазмоза свиней провели выборочные исследования сыворотки крови свиней под контролем микробиологического метода диагностики. В целом при

исследовании сыворотки крови от свиней из 10-ти хозяйств на микоплазмоз с помощью РНИФ было выявлено 69,6%, а в РНГА 63,3% больных и микоплазмозоносителей. Оба метода дополняют друг друга (табл. 5).

Таблица 5

Чувствительность РНИФ и РНГА по результатам исследования на микоплазмоз сыворотки крови поросят и свинок

№ п/п	Хозяйства	Количество проб крови	РНИФ, %	РНГА, %
1.	ЗАО «Новоазовское»	120 ремонтный молодняк	71±4,1	65±4,3
2.	ООО «АК Ударный»	10 ремонтный молодняк	100±0,0	90±9,5
3.	ЗАО «Кам. Курское»	20 свиноматки 25 поросят	70±10,2 100±0,0	55±11,1 76±8,5
4.	ООО «Титан»	10 ремонтный молодняк	90±9,5	60±15,5
5.	ОАО «Атлант»	20 ремонтный молодняк	80±8,9	60±10,9
6.	СПК им. Чапаева	15 свиноматки 10 поросят	66,6±12,2 90±9,5	60±12,6 70±14,5
7.	КФХ Вохмин	15 свиноматки 20 поросят	60±12,6 75±9,7	66,6±12,2 65±10,6
8.	КХ Трейзе	20 свиноматки 20 поросят	60±10,9 65±10,6	50±11,2 45±11,1
9.	«Рощино»	7 свиноматки	14,3±13,2	57,1±18,7
10.	ООО «Комплекс»	9 поросят	33,3±15,7	66,6±15,7
Всего:		321	69,6±2,6	63,3±2,7

Для изучения диагностической ценности изученных методов провели комплексное исследование биоматериала от свиней и поросят из свиноводческих хозяйств Омской и Тюменской областей (табл. 6).

Таблица 6

Диагностическая ценность комплекса методов (микробиологический, РНИФ и РНГА) исследований на микоплазмоз в производственных условиях

Хозяйства	РНИФ Кол-во проб / результат в %					РНГА в %	Микробиол. метод, %
	сыворотка крови	цервиковагит. слизь	суст. жид- кость	пат. мат-л	нос. слизь	сыворотка крови	
№1	-	-	-	-	-	10/90	10/90
№2	10/90	10/90	10/80	-	-	10/60	20/75
№3	120/71	20/90	-	-	-	120/65	20/85
№4	10/100	10/80	-	9/22,2	40/65	10/90	59/64,4
№5	45/85	20/90	-	-	25/92	45/65,5	45/75
№6	-	-	-	-	-	-	20/70
№7	-	-	-	7/57,1	-	-	7/42,8
№8	-	-	-	-	-	-	12/33
№9	25/78,3	20/85	10/90	20/85	-	25/64	50/64
№10	35/67,5	20/60	-	20/65	-	35/65,7	40/45
№11	40/62,5	20/70	-	20/80	10/60	40/47,5	50/62
№12	20/80	10/90	10/60	-	-	20/60	20/65
№13	9/33,3	-	-	8/12,5	-	9/66,6	8/25
№14	-	-	-	7/28,5	-	-	7/28,5
№15	7/14,3	-	-	8/50	-	7/57,1	8/25
Всего:	321/69	130/81,8	30/76,6	99/50	75/72,3	331/66,5	376/56,6

Примечание: материал получен из хозяйств: №1 - ЗАО «Рось», №2 - ООО «Группа компаний Титан», №3 - ЗАО «Новоазовское», №4 - ООО «Агрокомплекс Ударный», №5 - ЗАО «Кам. Курское», №6 - ЛПХ Ефремова, №7 - ООО «ОПХ СибМИС», №8 - Еремеевское, №9 - СПК им. Чапаева, №10 - КФХ Вохмина, №11 - КХ Трейзе, №12 - ОАО «Атлант», №13 - ООО «Комплекс», №14 - ООО «Согласие», №15 - ООО «Рощино».

Установлено, что РНИФ и РНГА равноценны по чувствительности при микоплазмозе свиней. Комплексное их применение для исследования сыворотки крови и цервико-вагинальной слизи позволяет в среднем на 9% больше выявлять больных свиней и микоплазмозоносителей. При этом положительные результаты РНГА и РНИФ подтверждаются результатами микробиологического исследования в 56,6%, что указывает на их высокую диагностическую ценность.

2.4.5. Сравнительное изучение чувствительности микробиологического, серологического (РНИФ) экспресс-методов диагностики микоплазмоза свиней и метода полимеразной цепной реакции

Чувствительность РНИФ и ПЦР изучали в сравнении с микробиологическим методом диагностики микоплазмоза свиней. Материалом для исследований служила цервико-вагинальная слизь от свиноматок, подозреваемых в спонтанном заражении микоплазмозом, а также патологический материал от павших или вынужденно убитых свиней и абортированных плодов.

ПЦР обладает высокой чувствительностью (80-83%) и специфичностью, возможностью индикации возбудителя в различных образцах, позволяет проводить как единичные диагностические исследования, так и осуществлять широкомасштабный мониторинг поголовья в различных свиноводческих хозяйствах. РНИФ менее чувствительна (37,1-73,3%), чем ПЦР, но также высокоспецифична, менее трудоемка и очень быстрая (экспресс-метод). Кроме того, с помощью специфических микоплазмозных сывороток можно идентифицировать возбудителя до вида. Но основным методом диагностики микоплазмоза остается выделение возбудителя на питательных средах (31,4-66,6%), что дает возможность получения чистой культуры и последующего изучения ее биохимических свойств и патогенности, а также чувствительности к антибиотикам.

2.5. Изыскание средств и методов лечения свиней при микоплазмозе, в том числе, ассоциированном с другими инфекциями

2.5.1. Определение чувствительности выделенных от свиней культур микоплазм к антибактериальным препаратам *in vitro*

Методом серийных разведений на жидких диагностических питательных средах (пробирочный вариант) определяли антибиотикочувствительность выделенных от свиней культур микоплазм и уреоплазм.

Наибольшую чувствительность микоплазмы проявили по отношению к энрофлоксацину, гентамицину, линкомицину, тетрациклину, норфлоксацину, тилану и триметоприму (табл. 7). Уреоплазмы, в отличие от микоплазм, были наиболее чувствительны к эритромицину и резистентны к ципрофлоксацину.

Наиболее активные в отношении выделенных культур микоплазм и уреоплазм антибактериальные препараты (энрофлоксацин, линкомицин, тетрациклин, тилан и др.) были использованы нами в опытах по изучению

различных схем лечения микоплазмоза свиней и ассоциативных форм его проявления в производственных условиях.

Таблица 7

Минимальная подавляющая концентрация различных антибиотиков в отношении культур микоплазм и уреаплазм, выделенных от свиней (ЕД/мл)

№п/п	Антибиотик	M.hyorhinis	M.hyosynoviae	Ureaplasma sp.
1	Энрофлоксацин	<0,2	<0,2	<0,2
2	Гентамицин	0,4	1,56	0,8
3	Линкомицин	<0,2	0,4	6,25
4	Тетрациклин	12,5	6,25	12,5
5	Окситетрациклин	6,25	3,12	3,12
6	Левомецетин	12,5	>50	>50
7	Эритромицин	25	>50	3,12
8	Ципрофлоксацин	<0,2	0,8	>50
9	Норфлоксацин	<0,2	3,12	3,12
10	Амоксициллин	>50	>50	>50
11	Тилал	12,5	6,25	6,25
12	Тилозина тартрат	6,25	12,5	25
13	Тиламик	3,12	3,12	25
14	Триметоприм	6,25	3,12	12,5
15	Сульфадимезин	12,5	50	>50
16	Норсульфазол	25	>50	>50

2.5.2. Изучение различных схем лечения свиней при микоплазмозе и ассоциативных формах его проявления

Схемы лечения испытывали на свиноматках с клиническими признаками эндометритов, абортми, мертворождаемостью и мумификацией плодов в анамнезе (опыт 1) и поросятах с признаками бронхопневмоний, артритов (опыт 2). Свиноматок разделили на 5 групп, поросят на 6 групп по 5 голов в каждой. До лечения и через 15 дней после него проводили микробиологические и серологические исследования сыворотки крови, цервика-вагинальной и носовой слизи. Критерием оценки эффективности схем лечения служило отсутствие микробоносительства у животных после лечения.

Таблица 8

Схемы лечения свиней при микоплазмозе и ассоциативных формах его проявления

Группы жив-ых	Характеристика групп	Применяемые препараты	Курс лечения
Опыт 1. Свиноматки			
1-я	Мик.	Энрофлокс 5%	0,5-1 мл на 10 кг в теч. 3-5 дн
2-я	Мик. + салм.	Тетрациклин ПВП	0,1 мл на 1 кг однократно
3-я	Хлам. + уреапл.	Левотетрасульфид ПЭГ	1 мл на 10 кг двукратно, интервал 3 дня
4-я	Мик. + уреапл.	Контрольная не леченая группа	-
5-я	Клинически здоровые жив-е	Контрольная интактная группа	-
Опыт 2. Поросята			
1-я	Мик. + уреапл.	Линкомицин	0,5-1 мл на 10 кг в теч. 5-7 дн
2-я	Мик. + паст.	Энрофлокс 5%	0,5-1 мл на 10 кг в теч. 3-5 дн

3-я	Мик. + уреапл. + лепт. + лист.	Тилошаклин ПЭГ	0,1 мл на 1 кг однократно
4-я	Мик. + хлам. + сальм. + лист.	Лсвотетрасульфид ПЭГ	1 мл на 10 кг двукратно, интервал 3 дня
5-я	Мик. + паст. + сальм.	Контрольная группа, леченная по схеме, применяемой в хозяйстве (Нитокс).	1 мл на 10 кг однократно
6-я	Клинически здоровые жоя-с	Контрольная интактная группа	-

Наиболее эффективной схемой лечения свиноматок при микоплазмозе оказалась 1-ая при использовании Энрофлокса-5%, а при лечении от микоплазмоза в сочетании с сальмонеллезом – 2-ая с применением Тетрациклина ПВП. При лечении поросят, инфицированных микоплазмами и уреаплазмами, наиболее эффективной была 1-я схема с применением линкомицина, а при смешанной инфекции микоплазмоза с пастереллезом – 2-ая (Энрофлокс-5%) и 5-я (Нитокс) схемы (табл. 8).

Применение разработанных схем лечения свиней в хозяйстве позволило предотвратить экономический ущерб на сумму 57936 руб., при этом экономический эффект от проведенных лечебно-профилактических мероприятий составил 47936 руб., а экономический эффект на один рубль затрат составил – 4,8 руб.

ВЫВОДЫ

1. Микоплазмоз свиней широко распространен в хозяйствах Омской и Тюменской областей. Из 15-ти обследованных хозяйств в виде моноинфекции он зарегистрирован в двух (13%), а в остальных проявляется в ассоциативной форме.
2. Разработанные Омским НИИ ПОИ Роспотребнадзора совместно с ИВМ ОмГАУ жидкие и плотные питательные среды для индикации микоплазм и уреаплазм чувствительны и специфичны и позволяют выделять микоплазмы и уреаплазмы из биоматериала при жизни и патологического материала от свиней, дифференцировать их по основным биохимическим показателям и определять их концентрацию в КОЕ и ЦОЕ.
3. Выделенные от свиней из хозяйств Омской и Тюменской областей микоплазмы по биохимическим свойствам относятся к: *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae* и *Ureaplasma* sp.
4. Антигены, полученные из выделенных от свиней культур микоплазм, и гомологичные диагностические кроличьи антисыворотки активны в РНИФ и выявляют 50-82% больных животных и микоплазмоносителей. При этом специфичность РНИФ подтверждается результатами бактериологических исследований в 56% случаев. Данный метод позволяет одновременно с индикацией определять и видовую принадлежность микоплазм.
5. Разработанный микоплазмозный эритроцитарный диагностикум для РНГА специфичен и высокочувствителен: выявляет 66,5% больных свиней. РНГА и РНИФ дополняют друг друга и позволяют обнаруживать на 5-20% больше (в среднем на 9%) больных животных. Они имеют

преимущество перед микробиологическим методом диагностики, являются более технологичными и могут применяться одновременно с проведением массовых серологических исследований свиней на другие инфекционные болезни.

6. ПЦР является перспективным тестом в общем комплексе диагностики, она выявляет 80-83% положительных на микоплазмоз проб и дополняет микробиологический диагноз посмертно и прижизненно в 51,6% и 13,4 % случаев.
7. Выделенные от свиней культуры микоплазм и уреаплазм обладают высокой чувствительностью к препаратам фторхинолонового ряда (энрофлоксацин, норфлоксацин), макролидам (тилан, тилозин), тетрациклину, линкомицину.
8. При микоплазмозе у свиноматок наиболее эффективной является схема лечения с использованием Энрофлокса-5%, а при микоплазмозе, ассоциированном с сальмонеллезом – с применением тетрациклина ПВП. При лечении поросят от микоплазмоза и уреаплазмоза наиболее эффективна схема с применением линкомицина, а при смешанной инфекции микоплазмоза с пастереллезом – с использованием энрофлокса-5% и нитокса. Экономический эффект от внедрения предложенных рациональных схем диагностики и лечения составляет 4,8 рубля на один рубль затрат.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Ветеринарной практике предложены рациональные методы диагностики микоплазмоза свиней (микробиологический, РНИФ и РНГА), которые подробно изложены в методических рекомендациях: «Экспресс-методы диагностики микоплазмоза свиней», с целью своевременного выявления и изоляции больных животных и микробоносителей, а также схемы лечения свиней при микоплазмозе и ассоциативных формах его проявления.

Материалы диссертации могут быть использованы:

- для написания монографий, инструкций и наставлений;
- в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по микробиологии и эпизоотологии;
- в научно-исследовательских институтах и учреждениях ветеринарной медицины при решении вопросов диагностики, профилактики и лечения микоплазмоза свиней

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Распространение урогенитального микоплазмоза свиней и ассоциативных форм его проявления в хозяйствах Ишимского района Тюменской области / А.П. Красиков, А.Е. Жонголович // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных: сб. науч. тр. Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии – Ульяновск, 2006. – С. 379-381.
2. Усовершенствование экспресс-методов диагностики микоплазмоза свиней / А.Е. Жонголович, Г.В. Березкина // Патология сельскохозяйственных

- животных и пути ее профилактики: сб. науч. тр. ВНИИ БТЖ СО РАСХН – Омск, 2007. – С. 74-81.
3. Микоплазмоз свиней / А.Е. Жонголович, Г.В. Березкина // Проблемы ветеринарной и зоотехнической наук и пути их решения: сб. науч. тр. ИВМ ОмГАУ – Омск, 2008. – С. 74-79.
 4. Чувствительность и диагностическая ценность микробиологического и серологических (РНИФ, РНГА) методов диагностики микоплазмоза свиней / А.П. Красиков, А.Е. Жонголович // Ветеринарная патология – Москва, 2008. - № 1. – С. 168-171.
 5. Сравнение разных методов диагностики микоплазмоза свиней / А.Е. Жонголович, А.П. Красиков // Перспективы развития аграрной науки и образования: сб. науч. тр. ИВМ ОмГАУ – Омск, 2008. – С. 140-148.
 6. Схемы лечения при микоплазмоз-ассоциированной инфекции свиней / А.Е. Жонголович, И.Ю. Дмитриева // Вестник ОмГАУ – спецвыпуск, посвященный 90-летию ИВМ ОмГАУ – Омск, 2008. - С. 112-116.
 7. Сравнительная характеристика лабораторных методов диагностики микоплазмоза свиней / А.Е. Жонголович, А.П. Красиков, Н.Ф. Хатько // Актуальные проблемы сохранения здоровья населения Сибири: сб. науч. тр. ОмГМА – Омск, 2008. - Т. 2. – С. 178-181.

Отпечатано в типографии ООО «ОПУС»

Заказ №230 от 20.11.2008г.

Тираж 100 экз.