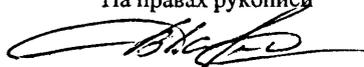


На правах рукописи



ДЁМИН Владимир Александрович

**ПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОРОСЯТ С
ПРИМЕНЕНИЕМ ФОРМОЛЯНТАРНОГО СПЛЕНОЛИЗАТА**

**16.00.03 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Курск – 2006

Работа выполнена в лаборатории ветеринарной медицины Курского федерального государственного научно-исследовательского института агропромышленного производства, на кафедре эпизоотологии и паразитологии ФГОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И.Иванова»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Евглевский Алексей Алексеевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Мищенко Владимир Александрович

кандидат ветеринарных наук
Епифанов Александр Васильевич

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Белгородская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится 21 декабря 2006 года в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.040.03 при ФГОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия имени профессора И.И.Иванова» (305021, Курск, ул.К.Маркса, 70).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Курской государственной сельскохозяйственной академии имени профессора И.И.Иванова».

Автореферат разослан 16 ноября 2006г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Рыжкова Г.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Свиноводство относится к отраслям специализирующимся и развивающимся по интенсивной технологии получения и выращивания поросят. Однако промышленное свиноводство характеризует ряд факторов, которые имеют выраженную стрессовую направленность. К ним относятся: однообразное неполноценное кормление животных всех возрастных групп, несоблюдение параметров микроклимата, отсутствие солнечной инсоляции, частые перегруппировки по технологическим линиям, ранний отъем поросят от свиноматок. Все это обуславливает низкий уровень естественной резистентности организма, массовые проявления иммунодефицитов, что, в конце концов приводит к заболеваемости желудочно-кишечными и респираторными болезнями (Бригадиров Ю.Н., 2002; Ковалев М.М., 2002; Петрянкин Ф.П. с соавт., 1995; Прудников С.И., Прудникова Т.М., 1997; Прудников С.И. с соавт., 2002; Шахов А.Г., 1996, 1999; 2002; Федоров Ю.Н. с соавт., 1997 и др.).

В этиологии желудочно-кишечных заболеваний в большинстве случаев участвуют различные ассоциации вирусов, бактерий, хламидий (Гаффаров Х.З. с соавт., 2002; Кареева Э.П. с соавт., 2002; Спиридонов Г.Н. с соавт., 2002; Шахов А.Г. 1996; 1999; 2002 и др.). Основные возбудители желудочно-кишечных заболеваний, как правило, относятся к условно-патогенным микроорганизмам, постоянно переживающим в желудочно-кишечном тракте. Свои патогенные свойства они способны реализовать только при выраженном дисбалансе принципа соответствия потребностей организма животного к условиям внешней среды. В этих условиях, когда возбудители желудочно-кишечных заболеваний постоянно персистируют в организме клинически здоровых животных, применение вакцинных препаратов не достигает желаемого результата, так как практически невозможно обеспечить достаточно напряженный иммунитет (Джупина С.И., 2002). Нерациональное, бессистемное применение антибиотиков и нитрофурановых препаратов при кишечных инфекциях ведет к возникновению лекарственно-устойчивых популяций микроорганизмов и утяжелению иммунодефицитных состояний. В связи с этим в настоящее время усиливается интерес и большого внимания заслуживают разработки иммуномодуляторов, действие которых направлено на повышение резистентности организма и на усиление иммунного ответа при вакцинациях (Артемов Б.Т., 1991; Беляев В.И., Сартасов Е.Л., 1992; Левин Ю.А., 1992; Петрянкин Ф.П. с соавт., 1995; Прудников С.И., 1997; Урбан В.П. с соавт., 1991; 1992; Федоров А.И. с соавт., 1993; 1998 и др.). Перспективным в этом направлении является использование иммуностропных препаратов на основе янтарной кислоты (Евглевский А.А. с соавт., 2005, 2006; Лебедев А.Ф. с соавт., 2005 и др.). Сама по себе янтарная кислота универсальный стимулятор обмена веществ живой клетки. Применение янтарной кислоты показано для повышения устойчивости к неблагоприятным воздействиям внешней среды, в частности, при стрессовых ситуациях, всевозможных нарушениях обмена веществ и интоксикациях, при иммунодефицитных и инфекционных заболеваниях.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований являлось научное обоснование практических подходов по разработке нового иммуностропного тканевого препарата на основе янтарной кислоты, обладающего широким спектром иммуномодулирующего, антистрессового, антитоксического и антиинфекционного действия и его испытание при сальмонеллезе свиней.

Для достижения этой цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить эпизоотическое состояние и определить роль сальмонеллеза в современной структуре желудочно-кишечных заболеваний в свиноводческих хозяйствах Курской области;

2. Теоретически обосновать способ получения комплексного иммуностропного препарата «янтарный спленолизат» с широким спектром действия и изучить его превентивную эффективность при моделировании сальмонеллезной инфекции на белых мышах;

3. Изучить влияние янтарного спленолизата на усиление иммунного ответа при вакцинации свиноматок и поросят против сальмонеллеза;

4. Изучить влияние нового иммуностропного препарата на показатели клеточной и гуморальной систем иммунитета;

5. Изучить лечебную и профилактическую эффективность янтарного спленолизата при желудочно-кишечных заболеваниях поросят бактериальной этиологии.

Научная новизна. Впервые научно обоснован и разработан способ получения нового иммуностропного тканевого препарата пролонгированного действия на основе янтарной кислоты и селезенки «янтарный спленолизат» и изучена его эффективность применения при сальмонеллезе и желудочно-кишечных заболеваниях поросят. Новизна исследования подтверждается патентом РФ № 2278678 от 27 июня 2006г. «Способ получения препарата для повышения резистентности организма животных».

Практическая значимость работы. Полученные данные обосновывают целесообразность применения янтарного спленолизата в системе мер активной профилактики сальмонеллеза поросят, высокая эффективность которого подтверждена в производственных условиях.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Роль и место сальмонеллеза в формировании нозологического профиля инфекционной патологии свиней в условиях Курской области;

- Способ получения нового иммуностропного препарата, обладающего выраженным антиинфекционным и иммуностропным действием;

- Результаты научных исследований по применению нового иммуностропного препарата «янтарный спленолизат» в системе мер профилактики сальмонеллеза и желудочно-кишечных заболеваний поросят.

Апробация и публикация научных результатов.

Основное содержание диссертации доложено и обсуждено на научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава Курской ГСХА (2004 г.); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 120-летию ветеринарной службе Курской области (2005 г.); на ученом совете Курского НИИ агропромышленного производства по итогам научно-исследовательской работы (2003,2004,2005);

По материалам диссертации опубликовано 6 научных статей и получен патент на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 128 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 19 таблицами, 2 рисунками и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений и приложения. Список использованной литературы включает 187 наименований, в том числе 18 иностранных авторов.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследований

Работа выполнена в период 2001-2005 г.г. в лаборатории ветеринарной медицины Курского НИИ агропромышленного производства, на кафедре эпизоотологии и паразитологии Курской государственной сельскохозяйственной академии, свиноводческих хозяйствах Курской области.

В опытах использовали янтарный спленолизат. Это тканевый препарат, полученный на основе кислотного гидролиза паренхимы селезенки с использованием янтарной кислоты. Подробная технология получения данного препарата изложена в соответствующем разделе собственных исследований.

Протективную активность янтарного спленолизата изучали на белых мышах, массой тела 18-20 г, при моделировании на них эшерихиозной и сальмонеллезной инфекции.

Для определения специфичности гибели лабораторных животных проводили бактериологическое исследование сердца, печени, селезенки, почек.

Диагноз на сальмонеллез устанавливали на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и результатов бактериологического исследования.

При клинических обследованиях животных обращали внимание на их общее состояние, возраст, упитанность, частоту и тяжесть кишечных заболеваний, падеж поросят. Характер проявления и клиническое течение сальмонеллеза наблюдали у 37 поросят ЗАО «Содружество».

Патологоанатомические данные изучали при вскрытии 29 трупов павших и 8 убитых с диагностической целью поросят.

Материалом для бактериологического исследования от павших поросят служили: сердце, пораженные участки легких, печень с желчным пузырем, селезенка, почка, изолированная 12-перстная кишка.

Посевы из патологического материала делали на обычные питательные среды: МПА и МПБ и дифференциально-диагностические – Эндо, Левина, Плоскирева.

Выросшие типичные колонии отсевали на скошенный МПА для дальнейшего изучения.

Патогенность выделенных культур сальмонелл определяли на белых мышах. Для этого их заражали взвесью бактерий в дозе 500 млн. микробных клеток.

Для определения LD_{50} готовили последовательные десятикратные разведения из 500 млн. микробной взвеси. Из каждого разведения 0,5 мл вводили внутрибрюшинно белым мышам. Результаты учитывали в течение 7 дней.

Для иммунизации свиноматок и поросят использовали два вида вакцин: вакцину живую против сальмонеллеза свиней из штамма ТС-177 Щелковского биокомбината; ассоциированную вакцину против сальмонеллеза, Омской биофабрики.

Титр противосальмонеллезных агглютининов в сыворотке крови подопытных животных определяли в реакции агглютинации (РА) классическим пробирочным методом, используя комплексный антиген, включающий 1,5 млрд. микробных тел культуры *S.cholerae suis* и 0,5 млрд. микробных тел *S.typhi suis* убитых кипячением и 0,2 % формалином.

Для определения количества Т- и В – лимфоцитов в крови свиней применяли метод розеткообразования, включающий выделение взвеси лимфоцитов, инкубацию их с индикаторными частицами и учет реакции.

Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови свиней определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965), в равномерном слое 1,5% агарового геля, содержащего моноспецифическую антисыворотку к соответствующему классу иммуноглобулинов свиней.

Цифровые данные, полученные в экспериментах и оценку значения критерия достоверности (Р) проводили по методике Ассатиани А.С. (1995).

Вероятность различий считалось существенной при $P < 0,05-0,001$.

3.0. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Этиологическая структура инфекционных болезней свиней в Курской области

В Курской области в период с 2001 по 2003 г.г. зарегистрировано 10 инфекционных болезней, из них 7 бактериального и 3 вирусного происхождения.

Основную группу составляют желудочно-кишечные болезни свиней на долю которых ежегодно приходится до 90%. В эту группу входят: отечная болезнь свиней- 122 неблагополучных пункта или 33,9%; колибacte-

риоз – 102 неблагополучных пункта или 28,3%; сальмонеллез – 85 неблагополучных пунктов или 23,6%; дизентерия – 23 пункта (6,3%). Остальная часть болезней приходится на пастереллез, доля которого в инфекционной патологии составляет 7,7% или 28 неблагополучных пунктов. Такие заболевания как болезнь Ауески, болезнь Тешена, вирусный трансмиссивный гастроэнтерит в свиноводческих хозяйствах регистрируются крайне редко. Число неблагополучных пунктов по данным болезням составляет по одному в 5-7 лет.

Согласно официальной статистике наиболее распространенные болезни свиней, такие как рожа и лептоспироз большой эпизоотической значимости в промышленном свиноводстве не имеют.

Таким образом, в инфекционной патологии свиней желудочно-кишечные болезни занимают доминирующее положение и представлены 4 основными нозологическими формами: отечная болезнь, колибактериоз, сальмонеллез и дизентерия.

Заболевание колибактериозом в основном регистрировалось у новорожденных поросят. Причем чаще всего заболевали поросята, рожденные от разовых свиноматок, которые имели явно недостаточную живую массу.

Характерным признаком заболевания колибактериозом и отечной болезнью являлась полная неэффективность применения антибиотиков, в том числе и последнего поколения.

Сальмонеллез, как моноинфекция диагностирована в 85 свиноводческих хозяйствах. В результате серологической идентификации, выделенные культуры сальмонелл распределились в следующем порядке: *S.cholerae suis*, 68,2% (58 штаммов); *S.tuphi suis* 17,6% (15 штаммов); *S.Dublin* –3,5%. У 9 культур сальмонелл серологическая принадлежность не была установлена.

Эпизоотологические данные свидетельствуют, что заболевание сальмонеллезом чаще всего наблюдалось у поросят в предотъемный и послепотъемный периоды в любое время года. В роли провоцирующих заболевание факторов выступали отъем поросят от матерей, перегруппировки, изменение рациона кормления, однообразный тип кормления, скученность и др. В ряде случаев заболевание возникало после проведения вакцинаций, в том числе после вакцинации живой вакциной против сальмонеллеза.

Доминирующее положение колибактериоза и сальмонеллеза в инфекционной патологии свиней свидетельствует о низкой эффективности применяемой в регионе системы мероприятий по профилактике данных болезней. Это предопределяет цель исследований по совершенствованию существующих и разработке новых подходов профилактики данных инфекций.

3.2. Теоретическое обоснование конструирования тканевого иммуностропного препарата пролонгированного действия

Теоретическое и практическое разрешение проблем факторных инфекционных заболеваний у животных путем разработки и применения новых высокоэффективных экологически безопасных препаратов из сырья животного и растительного происхождения в последнее время привлекает все большее внимание отечественной и зарубежной науки и практики.

В качестве доступного животного сырья для разработки иммуностропного препарата мы решили использовать ткань селезенки. В вакцинном производстве ткань селезенки, ввиду избирательного накопления в ней большого количества антигена, вплоть до последнего времени используется для получения тканевых вакцин.

В настоящее время в ветеринарии достаточно хорошо известен целый ряд препаратов, в частности, спленоферон, спленивит, полученных из тканей селезенки свиней и крупного рогатого скота. Данные препараты обладают хорошо выраженным лечебно-профилактическим действием, обусловленным иммуномодулирующими свойствами и способностью проявлять широкий спектр антиинфекционного действия, как против бактерий, так и против вирусов.

Нами проведена серия поисковых опытов по совершенствованию технологии получения биологически активного тканевого иммуностропного препарата в основу которого положен кислотный гидролиз гомогената тканей селезенки с использованием янтарной кислоты.

Опыты показали, что наиболее полный и быстрый по времени (1,5-2,0 часа) гидролиз биомассы тканей селезенки происходит при концентрации кислоты 1%-1,2% или при $pH=2;3$. При этом температурный режим от $20^{\circ}C$ до $45^{\circ}C$ не оказывал существенного влияния на ускорение процесса гидролиза и количественный выход гидролизата. Процесс гидролиза легко контролировался визуально. О полноте гидролиза свидетельствовало четко выраженное расслоение содержимого биобутылей на две части: верхнюю, представляющую собой лишенную примесей биомассы молекулярную взвесь биологически активных веществ и нижнюю, в виде сформировавшегося осадка из биомассы.

Декантирование жидкой части гидролизата не представляло сложностей, так как отпадал весьма трудоемкий процесс фильтрации.

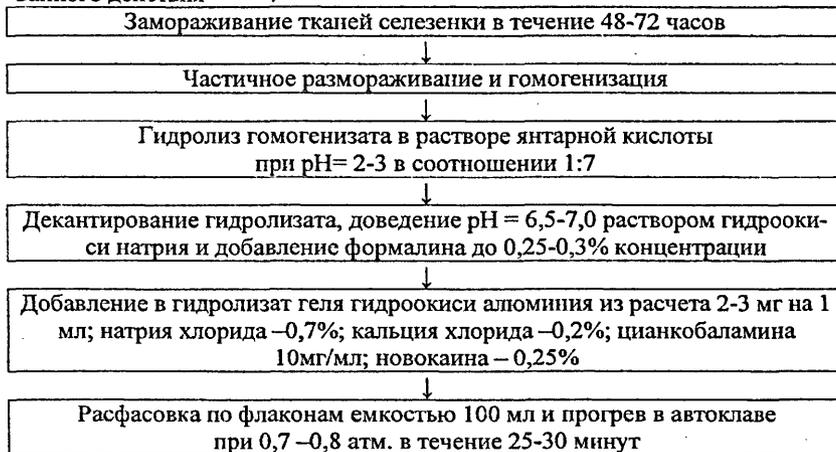
Для нейтрализации повышенной кислотности препарата мы использовали гидроксид натрия. Янтарная кислота, вступая в реакцию с гидроксидом натрия, переходила в растворимую соль - сукцинат натрия. Выпадения осадка при этом не наблюдалось.

Решение вопроса о стерильности препарата было найдено за счет добавления формалина. Логично предположить, что включение в состав препарата формалина было бы полезно для редуцирования состояния аллерготоксикоза, наблюдаемого при инфекционных процессах. В перспективе, в случае необходимости, используя указанные подходы можно очень быстро

приготовить тканевую инактивированную вакцину при локализации возбудителей в тканях селезенки.

В целом технология получения иммунетропного препарата из тканей селезенки отличается простотой, экономичностью и доступностью. В качестве иллюстрации мы приводим схему получения препарата на рисунке 1.

Рисунок 1 - Схема получения янтарного спленолизата пролонгированного действия



3.3. Протективная активность янтарного спленолизата с адьювантом при экспериментальных инфекциях белых мышей

В опытах использовали белых мышей массой 20-22 г. Сравнимые препараты вводили подкожно, однократно, в объеме 0,5 мл. Периоды заражения подопытных мышей в опытах варьировали от 7 до 14 и до 21 суток после иммунизации.

Таблица 1 – Протективная эффективность разных вариантов янтарного спленолизата при моделировании инфекционного процесса культурой *S.cholerae suis* в дозе 4 LD₅₀

№ группы (n=7)	Вариант препарата	Гибель мышей спустя				Выживаемость	
		Сутки	2 суток	3 суток	4 суток	абс.	%
Заражение спустя 7 дней после иммунизации							
1.	Янтарный спленолизат без адьюванта		2	1		4	57,1
2.	Янтарный спленолизат с адьювантом			1	1	5	71,4
3.	Контроль		3	4			
Заражение спустя 14 дней после иммунизации							
1.	Янтарный спленолизат без адьюванта		3	1	1	2	28,6
2.	Янтарный спленолизат с адьювантом		1	1	1	4	57,1
3.	Контроль		4	2	1		

Таблица 2 – Протективная эффективность разных вариантов янтарного спленолизата при моделировании смешанного инфекционного процесса культурами *E.coli* (2 LD₅₀) и *S.cholerae* (2 LD₅₀)

№ группы (n=7)	Вариант препарата	Гибель мышей спустя				Выживаемость	
		Сутки	2 суток	3 суток	4 суток	абс.	%
Заражение спустя 7 дней после иммунизации							
1.	Янтарный спленолизат без адьюванта		1	1	1	4	57,1
2.	Янтарный спленолизат с адьювантом		1	1		5	71,4
3.	Контроль	1	2	2	1	1	
Заражение спустя 14 дней после иммунизации							
1.	Янтарный спленолизат без адьюванта		2	2		3	42,8
2.	Янтарный спленолизат с адьювантом		1	1		5	71,4
3.	Контроль	1	1	2	1	1	

Таблица 3 – Вирулентность сальмонелл, выделенных от павших мышей

Группа	Количество выделенных культур с вирулентностью:		
	300 тыс. м.т.	500 тыс.м.т.	1 млн.м.т.
Подопытные мыши (n=9)	3 (33,3%)	5 (55,5%)	1 (11,1)
Контрольные мыши (n=9)	7 (77,7%)	2 (22,2%)	

Представленные в таблице 3 данные убедительно свидетельствуют о том, что иммунизация янтарным спленолизатом позволила ослабить вирулентность исходной культуры сальмонелл.

Полученные результаты позволяют надеяться на то, что данная закономерность будет проявляться и при применении данного препарата на продуктивных животных.

Учитывая, что янтарный спленолизат сочетает в себе гамму биологически активных веществ тканей селезенки, уникальные свойства янтарной кислоты и выраженную антиинфекционную активность формалина можно было вполне надеяться на положительный результат применения данного препарата при сальмонеллезной инфекции у свиней.

3.4. Влияние янтарного спленолизата на состояние иммунологической реактивности свиноматок:

*с низкими фоновыми показателями содержания специфических агглютининов при вакцинации против сальмонеллеза вакциной из штамма ТС-177

Таблица 4 – Титры специфических агглютининов в сыворотке крови супоросных свиноматок до и после введения янтарного спленолизата и вакцины ТС-17 против сальмонеллеза

Группа (n=5)	Применяемые биопрепараты	Титры агглютининов M±m			
		до введения	через:		
			7 дней после первого введения	14 дней после второго введения	28 дней после второго введения
1.	Янтарный спленолизат	1:25±0,24	1:79±0,17	1:107±0,26	1:119±0,26
2.	Янтарный спленолизат + вакцина ТС-177	1:28±0,18	1:182±0,23	1:293±0,54	1:275±0,18
3.	Вакцина ТС-177	1:27±0,19	1:165±0,28	1:217±0,29	1:210±0,32
4.	Физиологический раствор	1:26±0,27	1:33±0,32	1:93±0,28	1:129±0,35

*с высокими фоновыми показателями специфических агглютининов
 Таблица 5 – Титры специфических агглютининов в сыворотке крови свиноматок после введения янтарного спленолизата и вакцины ТС-177 против сальмонеллеза

Группа	Биопрепараты	Титры агглютининов М±m			
		До введения	Через 14 дней после 1-го введения	Через 14 дней после 2-го введения	Через 14 дней после 2-го введения
1.	Янтарный спленолизат 5 мл+ 5 мл	1:114±0,21	1:186±0,32	1:205±0,29	
2.	ТС-177 5 мл+ 5 мл	1:108±0,19	1:152±0,37	1:198±0,43	
3.	Физиологический раствор 5 мл+ 5 мл	1:112±0,23	1:128±0,26	1:142±0,27	

Полученные данные свидетельствуют о том, что при повышенных исходных показателях уровень специфических агглютининов высокая иммунизаторная реакция может быть достигнута за счет средств неспецифической стимуляции иммунитета, которую мы наблюдали в нашем случае при применении янтарного спленолизата.

Высказанное мнение обосновывается тем, что у свиноматок с высоким исходным уровнем специфических агглютининов, иммунизаторная реакция в ответ на вакцинацию проявилась даже несколько слабее, чем у особей, которым вводился янтарный спленолизат.

3.5. Влияние иммунизации свиноматок янтарным стимулятором на физиологическое состояние новорожденных поросят

В таблице 6 мы приводили данные наблюдений за приплодом свиноматок 1 группы (иммунизированы янтарным спленолизатом); 2 группы (иммунизированы янтарным спленолизатом и вакцинированы вакциной из штамма ТС-177); 3 группы (вакцинированы вакциной из штамма ТС-177) и 4 группы (контрольная).

Таблица 6 – Влияние иммунизации янтарным спленолизатом и вакцинации против сальмонеллеза на клинический статус рожденных поросят

№ группы	Родилось всего	Нормотрофики			Гипотрофики		
		Живая масса тела	Кол-во	%	Живая масса тела	Кол-во	%
1.	63	1175±0,60	57	90,5	890±0,40	6	9,5
2.	67	1120±0,50	61	88,0	860±0,50	8	12,0
3.	65	1055±0,40	52	80	770±0,40	13	20
4.	62	1060±0,50	49	79,3	765±0,40	13	20,8

Таким образом, есть все основания утверждать, что иммунизация свиноматок янтарным спленолизатом значительно улучшает внутриутробное развитие и ее сочетание с вакцинацией против сальмонеллеза вполне оправдано, так как позволяет увеличить количество нормотрофиков на 8% при более высоких показателях средней массы тела поросят. В дальнейшем эти поросята лучше росли и развивались, что положительно отразилось на показателях их сохранности на 30 сутки

Таблица 7 – Сохранность поросят в 30-дневном возрасте

№ группы	Исходный статус	Пало/Выжило	Сохранность (%)
1.	Нормотрофики	4/57	92,9
	Гипотрофики	3/6	50,0
2.	Нормотрофики	6/61	90,8
	Гипотрофики	3/8	62,5
3.	Нормотрофики	8/52	84,6
	Гипотрофики	6/13	54,1
4.	Нормотрофики	7/49	85,7
	Гипотрофики	7/13	46,2

3.6. Влияние янтарного спленолизата на показатели иммунобиологической реактивности поросят при вакцинопрофилактике сальмонеллеза

Изучение влияния янтарного спленолизата на иммунный статус и профилактику поствакцинальных осложнений провели на поросятах – сосунах месячного возраста.

Таблица 8 – Схема постановки опыта по испытанию эффективности янтарного спленолизата, живой и инактивированной вакцин при сальмонеллезе поросят

Группы животных (n=22)	27 дней	30 дней	45 дней
1.	Янтарный спленолизат в объеме 2,5 мл	Живая вакцина из штамма ТС-177	Янтарный спленолизат в объеме 3,0 мл
2.	Янтарный спленолизат в объеме 2,5 мл	Живая вакцина из штамма ТС-177	Живая вакцина из штамма ТС-177
3.	Янтарный спленолизат в объеме 2,5 мл	Инактивированная вакцина против сальмонеллеза	Янтарный спленолизат в объеме 3,0 мл
4.	Янтарный спленолизат в объеме 2,5 мл	Инактивированная вакцина против сальмонеллеза	Инактивированная вакцина против сальмонеллеза

3.6.1. Титры специфических агглютининов в сыворотке крови поросят после вакцинации против сальмонеллеза и введения янтарного спленолизата

Таблица 9 - Титры специфических агглютининов в сыворотке крови подопытных поросят

№ группы	Биопрепарат	Титры агглютининов в РА			
		До вакцинации	после вакцинации на:		
			7 сутки	14 сутки	28 сутки
1.	Янтарный спленолизат + вакцина ТС-177 + янтарный спленолизат	1:25±0,14	1:78±0,22*	1:148±0,39	1:144±0,28
2.	Вакцина ТС-177 (двукратно)	1:24±0,22	1:44±0,29	1:145±0,32	1:210±0,24*
3.	Янтарный спленолизат + инактивированная вакцина + янтарный спленолизат	1:25±0,14	1:64±0,22*	1:110±0,26	1:115±0,24
4.	Инактивированная вакцина (двукратно)	1:22±0,25	1:39±0,18	1:32±0,24	1:120±0,26

Примечание: * разница в показателях между первой и второй, третьей и четвертой достоверно выражена ($P < 0,05$).

Применение янтарного спленолизата в сочетании с живой вакциной позволило активизировать специфическую иммунизаторную реакцию организма, проявившуюся ускоренным ростом титра специфических агглютининов, что имело решающее значение в профилактике развития сальмонеллезного процесса.

3.6.2. Влияние янтарного спленолизата на состояние гуморального иммунитета поросят при вакцинации против сальмонеллеза живой и инактивированной вакцинами

Изучение влияния янтарного спленолизата, живой и инактивированной вакцин на состояние гуморальной системы иммунитета провели на 7, 14 и 28 сутки определением в сыворотке крови иммуноглобулинов класса М и G. Результаты проведенных исследований отражены в таблице 10.

Таблица 10 – Влияние янтарного спленолизата на содержание иммуноглобулинов М и G в сыворотке крови вакцинированных поросят

№ группы	Jg M г/л				Jg G г/л			
	Фон	Через 7 дней	Через 14 дней	Через 28 дней	Фон	Через 7 дней	Через 14 дней	Через 28 дней
1.	2,4± 0,18	2,6± 0,32	2,8± 0,23	2,7± 0,21	8,2± 0,54	8,4± 0,24	12,1± 0,38	12,6± 0,54
2.	2,4± 0,18	2,1± 0,16	2,6± 0,14	2,6± 0,28	8,4± 0,36	7,9± 0,28	11,9± 0,46	12,3± 0,39
3.	2,4± 0,16	2,6± 0,26	2,8± 0,19	2,8± 0,34	8,4± 0,32	8,4± 0,43	11,8± 0,44	12,4± 0,35
4.	2,4± 0,15	2,3± 0,24	2,6± 0,18	2,6± 0,24	8,3± 0,32	8,6± 0,43	11,6± 0,38	12,8± 0,42

Исходя из данных таблицы 10 следует, что предварительная стимуляция организма поросят янтарным стимулятором позволяет не только ослабить супрессорное влияние вакцинации на гуморальную систему иммунитета, но и обеспечить ускоренный процесс синтеза основных иммуноглобулинов, что имеет важное значение в формировании напряженного иммунитета к сальмонселлезной инфекции.

3.6.3. Влияние янтарного спленолизата на содержание Т- и В-лимфоцитов в крови поросят при вакцинации против сальмонеллеза живой и инактивированной вакцинами

Изучение влияния янтарного спленолизата на динамику Т- и В-лимфоцитов в крови поросят при вакцинации против сальмонеллеза провели на 7-14 и 28 сутки. Результаты проведенных исследований отражены в таблице 11.

Таким образом, проведенные исследования показали, что применение янтарного спленолизата, при вакцинации поросят против сальмонеллеза, выражено стимулирует активность Т- и В – систем клеточного иммунитета, позитивно изменяет соотношение Т-клеток, выполняющих хелперную и супрессорную функции.

Таблица 11 - Влияние янтарного спленолизата на содержание Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных поросят

№ группы	Срок исследования, день			
	До вакцинации	7 день	14 день	28 день
Т- лимфоциты $10^9/л$				
1.	2,84±0,42	2,950,32	3,97±0,44	3,96±0,32
2.	2,86±0,38	2,74±0,33	3,71±0,42	3,72±0,28
3.	2,89±0,36	2,92±0,35	3,64±0,38	3,69±0,26
4.	2,86±0,24	2,72±0,28	3,22±0,23	3,48±0,24
Т - хелперы, %				
1.	20,8±0,32	22,8±0,21	25,2±0,32**	25,4±0,27**
2.	21,2±0,40	18,6±0,18	24,8±0,27**	25,0±0,34**
3.	21,4±0,21	23,4±0,24	25,6±0,24**	25,8±0,35**
4.	21,2±0,40	19,2±0,22	24,4±0,36**	24,8±0,42**
Т - супрессоры, %				
1.	10,1±0,18	10,6±0,32	10,4±0,26	10,2±0,12
2.	10,2±0,14	14,1±0,28**	10,8±0,34	10,4±0,16
3.	10,6±0,12	10,4±0,24	10,2±0,18	10,2±0,14
4.	10,5±0,16	12,8±0,32	10,7±0,24	10,2±0,14
В - лимфоциты $10^9/л$				
1.	1,95±0,18	2,03±0,22	2,46±0,28	2,48±0,31
2.	2,02±0,12	1,96±0,14	2,38±0,21	2,52±0,23
3.	1,98±0,16	2,05±0,12	2,50±0,22	2,48±0,34
4.	1,98±0,16	1,98±0,18	2,36±0,24	2,44±0,26

Примечание: * различия в показателях сравниваемых групп достоверна ($p < 0,01$); ** - различия в показателях достоверны по отношению к исходному уровню.

3.7. Влияние янтарного спленолизата на иммунобиологическую реактивность подсосных поросят их рост и развитие

Схемой проведения опытов предусматривалась следующая кратность применения янтарного спленолизата. Поросятам-гипотрофикам препарат вводили с интервалом в 7 дней в дозе 1,0 мл; 1,5 мл; 2,0 мл. Поросятам нормотрофикам препарат вводили с кратностью один раз в 10 дней в дозе 1,0 мл; 1,5 мл и 2,0 мл. Поросят иммунизировали на 2-3 суток после рождения. Во втором месяце гипотрофикам и нормотрофикам янтарный спленолизат применили с кратностью один раз в 15 дней в дозе 2,0 мл.

Результаты комплексных исследований представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Влияние янтарного спленолизата на динамику показателей крови поросят-нормотрофиков

Показатели	Дни исследования			
	Опытная группа		Контрольная группа	
	30 дней	45 дней	30 дней	45 дней
Т-лимфоциты, $10^9/л$	3,64±0,28	3,93±0,21	3,21±0,47	3,65±0,34
В - лимфоциты, $10^9/л$	1,84±0,26	1,92±0,18	1,67±0,43	1,91±0,14
Общий белок, г/%	7,29±0,41	7,84±0,36	7,15±0,16	7,79±0,24
Фракции белка: альбумины	43,80±1,82	48,64±2,43	42,80±2,14	45,27±2,46
Глобулины: альфа	20,56±0,11	22,81±2,24	21,42±1,65	22,35±1,42
бета	18,45±2,15	22,12±1,65	19,91±1,04	21,92±1,15
гама	19,10±1,44	19,40±2,05	20,17±1,99	21,05±1,44
Гемоглобин, г/%	15,24±1,35	15,71±0,64	15,20±0,48	15,34±0,49
Метгемоглобин, г/%	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01

Таблица 13 – Влияние янтарного спленолизата на динамику показателей крови поросят – гипотрофиков

Показатели	Дни исследования			
	Опытная группа		Контрольная группа	
	30 дней	45 дней	30 дней	45 дней
Т-лимфоциты, $10^9/л$	7,42±0,35	7,84±0,19	5,45±0,53	5,32±0,21
В - лимфоциты, $10^9/л$	2,75±0,34	2,93±0,22	2,25±0,16	2,29±0,15
Общий белок, г/%	6,52±0,33	7,21±0,23	5,17±0,21	5,48±0,18
Фракции белка: глобулины	41,30±2,18	46,34±3,46	35,82±1,24	39,16±1,32
Глобулины: альфа	19,33±2,41	21,64±2,53	17,45±3,05	17,32±1,58
бета	17,20±3,21	21,00±2,17	16,72±2,18	17,25±1,18
гама	18,90±3,10	17,38±2,41	20,35±2,75	21,47±2,15
Гемоглобин, г/%	12,48±0,42	13,56±0,45	9,88±0,48	9,15±0,75
Метгемоглобин, г/%	0,22±0,11	0,08±0,04	1,94±0,36	2,32±0,47

Наблюдение за подопытными группами нормотрофиков и гипотрофиков показало, что желудочно-кишечные заболевания у них практически не регистрировались. Это положительно отразилось на показателе их ротовой активности. Среднесуточный прирост массы тела у поросят-гипотрофиков опытной группы на 30-й день составил 205 г., против 172 г у их сверстников из контрольной группы; у поросят-нормотрофиков опытной группы данный показатель составил 324 г против 263 г. у особей из контрольной группы.

В целом за 60 дней отход поросят-гипотрофиков из опытной группы составил 3 особи (16,6%) против 12 (66,6%) из контрольной группы. Среди поросят-нормотрофиков опытной группы пало два поросенка (10%) против 7 (35%) из контрольной группы.

Таким образом, в ходе данного опыта установлено, что янтарный спленолизат оказывает выраженное иммуностимулирующее влияние на растущий организм новорожденных поросят. Весьма ценным свойством данного препарата является его способность активизировать клеточную и гуморальную систему иммунитета и окислительно-восстановительные обменные процессы, что особенно важно в противостоянии молодого организма неблагоприятным факторам внешней среды и возбудителям желудочно-кишечных заболеваний.

В целом полученные результаты исследований послужили основанием для внедрения янтарного спленолизата в систему лечебно-профилактических мероприятий на самом крупном в Курской области свинокомплексе «Магнитный» мощностью 54 тысячи голов свиней в год.

5. ВЫВОДЫ

1. В инфекционной патологии свиней в свиноводческих хозяйствах Курской области желудочно-кишечные болезни составляют до 90%, из них на долю сальмонеллеза приходится 23,6%. Эпизоотические вспышки сальмонеллеза свиней обусловлены преимущественно *S.choleraesuis* (68,2%) и *S.typhusuis* (17,6%).

2. В условиях стационарно неблагополучной по сальмонеллезу свиноводческой фермы уровень сальмонеллоносительства среди свиноматок достигает 42,4%-57,1%, что имеет важное значение в распространении возбудителя болезни и инфицировании потомства.

3. Вакцинация поросят против сальмонеллеза на фоне иммунодефицитов вызывает снижение активности клеточной и гуморальной систем иммунитета, что в условиях высокого уровня сальмонеллоносительства может обуславливать повышенную чувствительность вакцинированных животных к сальмонеллезной инфекции.

4. Теоретически обоснован и разработан новый способ получения иммунотропного препарата из тканей селезенки с использованием янтарной кислоты, обладающего выраженным противоинфекционным и иммуномодулирующим действием.

5. Иммунизация янтарным спленолизатом белых мышей с последующим их заражением на 7 и 14 сутки вирулентными культурами *E.coli* и *S.choleraesuis* в дозе 4 LD₅₀ обеспечивает защиту их организма на уровне 71,4 и 57,1% соответственно.

6. Предварительное применение янтарного спленолизата перед вакцинацией поросят против сальмонеллеза обеспечивает более высокие стартовые показатели содержания Т и В- лимфоцитов, усиливает синтез иммуноглобулинов класса М и G, что позволяет нивелировать отрицательное

иммунизаторное действие вакцинации на организм животных и значительно ускорить выработку специфических антител.

7. Производственная апробация янтарного спленолизата в условиях крупного свиноводческого комплекса свидетельствует о перспективе и практической целесообразности его применения в системе мер профилактики желудочно-кишечных болезней поросят смешанной этиологии.

6. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для профилактики желудочно-кишечных болезней поросят, повышения их ростовой активности рекомендуется применение нового иммуностропного препарата с широким спектром действия в основу получения которого положен технологически простой и эффективный способ гидролиза тканей селезенки с использованием янтарной кислоты.

2. В целях профилактики поствакцинальных осложнений у поросят и ускорения процесса выработки специфических антител при вакцинации против сальмонеллеза рекомендуется применение янтарного спленолизата за сутки до иммунизации.

3. Результаты проведенных исследований вошли в нормативно-техническую документацию на способ получения средства для повышения резистентности организма животных и временное наставление по применению формоянтарного спленолизата, утвержденную начальником управления ветеринарии Курской области.

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Демин В.А. Этиологическая структура инфекционных заболеваний свиней в Курской области / В.А. Демин // Повышение продуктивных качеств, улучшения профилактики и лечения животных: мат. Всероссийской науч.-прак. конф., г. Курск, 21-25 марта 2005 г. ч.1.– Курск: КГСХА, 2005.– С. 124-127.

2. Демин В.А. Поствакцинальные вспышки сальмонеллеза поросят и их профилактика / В.А.Демин, А.А.Евглевский, Н.Н.Кортев// Повышение продуктивных качеств, улучшения профилактики и лечения животных: мат. Всероссийской науч.-прак. конф., г. Курск, 21-25 марта 2005 г. ч.1.– Курск: КГСХА, 2005.– С. 127-129.

3. Демин В.А. Теоретическое обоснование и практические подходы конструирования иммуностропного препарата с широким спектром действия / А.Ф.Лебедев, О.М.Швец, Е.П.Евглевская, В.А.Демин и др. // Мат. Всеросс. науч.-прак. конф., посвященной 120-летию ветеринарной службы Курской области, г.Курск, 26-27 мая 2005 г. – Курск, 2005.– С. 204-207.

4. Демин В.А. Изучение влияния янтарного спленолизата на гематологические, иммунологические и биохимические показатели поросят пред- и послеотъемного возраста /И.Ф.Наумова, Н.М.Русаква, В.А.Демин //

Мат. Всеросс. науч.-прак. конф., посвященной 120-летию ветеринарной службы Курской области, г.Курск, 26-27 мая 2005 г. – Курск, 2005.– С. 255-259.

5. Демин В.А. Применение иммуномодуляторов для повышения иммунобиологической резистентности при инфекционных болезнях свиней / И.Ф.Наумова, И.А.Шевцов, В.А.Демин, В.М.Зятыков // Мат. Всеросс. науч.-прак. конф., посвященной 120-летию ветеринарной службы Курской области, г.Курск, 26-27 мая 2005 г. – Курск, 2005.– С. 259-263.

6. Демин В.А. Достижения, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки в Курском НИИ агропромышленного производства / В.А.Демин, А.А.Евглевский, О.М.Швец, Н.В.Воробьева, С.Н.Лапиков // Достижения науки и техники АПК.– 2006.– № 10.– С. 14-15.

7. Пат. 2278678 Российская Федерация, МПК7 А61К 35/28, А61К 35/407, А61К 35/48, А61Р 37/02. Способ получения препарата для повышения резистентности организма животных / Демин А.В., Евглевский А.А., Швец О.М., Евглевская Е.П., Панькова С.Ю., Скребнев С.А.; заявитель и патентообладатель Курск. гос. сельхоз. акад.– № 2004116104/15; заявл. 26.05.04; опубли. 27.06.06, Бюл. № 18(II ч.). - 5с.: ил.

ДЁМИН Владимир Александрович

АВТОРЕФЕРАТ

**ПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОРОСЯТ
С ПРИМЕНЕНИЕМ ФОРМОЛЯНТАРНОГО СПЛЕНОЛИЗАТА**

Сдано в набор 07.11.2006 г. Подписано в печать 07.11.2006 г.
Формат 60x84 1/16. Бумага Айсберг. Объем 1,0 усл. печ. л.
Гарнитура Таймс.
Тираж 100 экз. Заказ № 329.

Издательство КГСХА им. проф. И.И. Иванова
305021, г. Курск, ул. К. Маркса, 70

Отпечатано: ПБОЮЛ Киселева О.В.
ОГРН 304463202600213

