

ПОЯРКОВА Татьяна Владимировна

**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ
И ЛЕЧЕБНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИРАМИСТИНА ПРИ
КОЛИБАКТЕРИОЗЕ И САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ ПОРОСЯТ**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и вирусологии ФГОУ
ВПО Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д.
Глинки

Научный руководитель - доктор ветеринарных наук, профессор
Кузьмин Геннадий Николаевич

Официальные оппоненты - доктор ветеринарных наук, профессор
Субботина Светлана Григорьевна
доктор ветеринарных наук
Жуков Иван Васильевич

Ведущая организация - ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии,
фармакологии и терапии», г. Воронеж

Защита состоится 31 марта 2005 года в 13⁰⁰ на заседании
диссертационного совета Д 220.010.01 при Воронежском государственном
аграрном университете им. К.Д. Глинки (394087, г. Воронеж, ул.
Ломоносова, 114а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского
государственного аграрного университета им. К.Д. Глинки.

Автореферат разослан "25" февраля 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета  Т.Е. Соловьева

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Болезни молодняка, по данным академика РАСХН Воронина Е.С. (1996), занимают второе место после мастита в иерархии экономического ущерба, наносимого мировому животноводству. В структуре таких болезней ведущее место принадлежит инфекционным желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят и поросят бактериальной, вирусной и смешанной этиологии.

"Долгожителями" среди этой группы инфекций в России являются колибактериоз и сальмонеллез, проявляющиеся у телят и поросят раннего постнатального периода сходной диарейной симптоматикой.

Согласно эпизоотологической статистике, названные болезни сохраняют лидирующие позиции на протяжении нескольких десятков лет среди нозологических форм, ежегодно регистрируемых ветеринарной службой.

Множественная серовариабельность эшерихий и сальмонелл в этиологическом спектре энтероинфекций у молодняка обеспечивает длительную циркуляцию микроорганизмов во внешней среде, поддерживаемую комплексом предрасполагающих хозяйственных факторов и создает труднопреодолимый барьер для конструирования эффективных средств специфической защиты при инфекционных диареях животных. Замечено, что иммунопрофилактика таких факторных инфекций без надлежащего улучшения зооигиенических условий содержания животных может быть безрезультатной.

Поэтому, некоторые исследователи (А.Г. Шахов, 1999; П.А. Емельяненко, 2000; В.И. Терехов, 2000; Ю.Н. Бригадиров, 2002 и др.) считают, что подход к профилактике и лечению диарей новорожденных животных с помощью вакцин и гипериммунных сывороток малоперспективен, так как для его реализации требуется создание в большом количестве различных биопрепаратов, с учетом этого многие авторы отдают предпочтение в борьбе с кишечными инфекциями фармакотерапии (В.П. Урбан и др., 1984; А.И. Ануфриев и соавт., 1992; А.Г. Шахов и соавт, 1995; С.И. Джупина, 2001 и др.).

Для этих целей широко применяются антибиотики, нитрофураны, фторхинолоны и другие препараты. Однако, установлено, что нерациональное использование антибактериальных средств, и прежде всего антибиотиков при кишечных инфекциях, зачастую приводит к возникновению антибиотикозависимых, полирезистентных популяций микроорганизмов, иммунодепрессии. В этой связи весьма актуален поиск высокоэффективных средств, лишенных указанных недостатков.

К таким препаратам, в большинстве своем, относятся поверхностно-активные вещества (этоний, хлоргексидин, ломаден, додецилий и т.д.), нашедшие широкое применение как в медицинской, так и в ветеринарной практике (В.Н. Видении, 1983; Д.Н. Кавкало, 1984; Н.Н. Филиппов и соавт., 1986; И.Д. Бурлуцкий, 1984; А.Г. Шахов и соавт., 1995; С.И. Першина, 1996; Г.Н. Кузьмин и соавт., 2001).

Поверхностно-активные вещества всех типов с точки зрения механизма антимикробного действия объединяет способность молекул адсорбироваться на поверхности клеточных мембран микроорганизмов, вызывать повышение их проницаемости, благодаря чему происходит утечка из клеток жизненно важных низкомолекулярных соединений, а у грамотрицательных бактерий отмечается выход аминокислот, нарушаются биохимические и дыхательные процессы, энергетический обмен в микробной клетке (Т. Франклин и соавт., 1984; П.П. Лярский и соавт., 1985). Поэтому, изучение новых эффективных препаратов из этой группы с целью внедрения в ветеринарную практику является актуальной задачей.

К числу таких средств относится моногидрат-катионное поверхностно-активное вещество - мирамистин. По данным медицинских исследователей, препарат обладает антимикробным (Т.В. Васильева и др., 1993; В.В. Свистов, 1998), противовирусным (Ю.С. Кривошей и соавт., 1997; В.В. Свистов, 1998; Ю.Л. Криворутченко, 1999), противогрибковым (В.Г. Арзуманян, 2002) и иммуномодулирующими (В.А. Шатров, 1992; Л.В. Кузнецова, 1997) свойствами, относится к малотоксичным средствам (Ю.С. Кривошей и соавт., 1984; В.В. Свистов, 1998), не обладает аллергизирующим, канцерогенным и эмбриотоксическим эффектами, что делает его перспективным для использования не только в медицине, но и в ветеринарии.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований являлось изучение антимикробной активности и лечебно-профилактической эффективности нового препарата их группы поверхностно-активных веществ - мирамистина при колибактериозе и сальмонеллезе поросят и, рекомендация его в клиническую практику.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить этиологию колибактериоза и сальмонеллеза у поросят в ряде свиноводческих хозяйств Воронежской области.
2. Изучить *in vitro* антимикробную активность мирамистина в отношении музейных и полевых штаммов эшерихиозных и сальмонеллезных культур.
3. Установить возможность адаптации и реадaptации эшерихий и сальмонелл к мирамистину.
4. Изучить сочетанное действие мирамистина и антибиотиков на возбудителей энтероинфекций у поросят.
5. Изучить влияние мирамистина на нормальную микрофлору кишечника у животных.
6. Изучить специфическую активность мирамистина на моделях колибактериозной и сальмонеллезной инфекций белых мышей.
7. Определить оптимальные профилактические и лечебные дозы мирамистина при энтероинфекциях у поросят.
8. Изучить профилактическую и лечебную эффективность мирамистина при колибактериозе и сальмонеллезе поросят.
9. Определить влияние мирамистина на некоторые физико-

химические свойства мяса поросят.

Исследования проведены в 2001-2004 г.г. в соответствии с планом НИР кафедры эпизоотологии и вирусологии имени В.Т. Котова Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки по проблеме "Разработать и внедрить научно-обоснованные методы диагностики, лечения и профилактики массовых болезней животных в условиях ЦЧЗ" (номер государственной регистрации 01.96.0082960).

Научная новизна. Впервые изучены *in vitro* и на моделях энтероинфекций белых мышей антимикробная активность мирамистина в отношении возбудителей колибактериоза и сальмонеллеза у поросят; сочетанное действие мирамистина и антибиотиков разных групп в отношении патогенных энтеробактерий; возможность их адаптации и реадaptации к препарату; установлено влияние мирамистина на нормальную микрофлору кишечника у животных. Отработаны оптимальные профилактические и лечебные дозы мирамистина при колибактериозе и сальмонеллезе поросят, изучено его влияние на морфологические и биохимические показатели крови поросят; определены профилактическая и лечебная эффективность мирамистина при колибактериозе и сальмонеллезе у поросят и действие препарата на физико-химические свойства мяса.

Новизна исследований подтверждена получением патента на изобретение "Способ лечения колибактериоза и сальмонеллеза у поросят" №2239425, который зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 10 ноября 2004 года.

Практическая значимость. Для ветеринарной практики с целью профилактики и лечения колибактериоза и сальмонеллеза у поросят рекомендуется новый препарат из группы поверхностно-активных веществ - мирамистин.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского и аспирантского состава факультета ветеринарной медицины (2002, 2003, 2004), на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях» (Воронеж, ВНИИВФФит, 2003), на Первой интернациональной конференции «Bacterial, viral and parasitic infections in human and veterinari medicine» (Republic of Bulgaria, Sofia, 2003), научно-практической конференции «Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки в начале XXI века» (Воронеж, ВГАУ, 2003), на научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава факультета технологии животноводства и товароведения (2004).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 статей получен патент на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 174 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора

литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений и списка литературы, включающего 314 наименований, в том числе 52 иностранных авторов. Работа содержит 28 таблиц, 7 рисунков, приложения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Антимикробная активность мирамистина в отношении возбудителей энтероинфекций у поросят.
2. Профилактическая и лечебная эффективность мирамистина при колибактериозе у поросят.
3. Профилактическая и лечебная эффективность мирамистина при сальмонеллезе у поросят.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии и вирусологии имени В.Т. Котова Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки в 2001-2004 г.г., а также в условиях, Воронежской областной ветеринарной лаборатории, Бутурлиновской районной ветеринарной лаборатории, хозяйств Воронежской области.

В опытах использовали мирамистин (сложное соединение на основе мирамистиновой кислоты, разработанное по программе "Космические биотехнологии"), выпускаемый ЗАО "Инфамед" (г. Москва) под торговым названием "0,01% раствор мирамистина". Это бесцветный, прозрачный раствор, без вкуса и запаха, широко используемый в качестве антисептического средства в различных областях медицины.

Антимикробную активность препарата определяли методом серийных разведений. Для этого из основного раствора (0,01%-ный водный раствор мирамистина) готовили последовательные двукратные разведения в мясо-пептонном бульоне (МПБ) в объеме 2 мл, с содержанием основного вещества от 50 до 0,098 мкг/мл. В приготовленные разведения вносили суспензию суточной тест-культуры в изотоническом растворе натрия хлорида в количестве 200 тысяч микробных клеток на 1 мл среды. Посевы инкубировали в термостате в течение 24-48 часов, после чего учитывали результат.

Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБсК) устанавливали, учитывая признаки роста микроорганизмов на мясо-пептонном бульоне (помутнение, образование хлопьев, осадка и т.д.). Критерием МБсК считали концентрацию, которая вызывала задержку роста культуры микроорганизмов.

Для определения бактерицидного действия мирамистина из последних пробирок с МПБ, где не было роста микроорганизмов, делали посевы в чашки Петри на мясо-пептонный агар. Инкубацию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 24-72 часов. Минимальной бактерицидной считали концентрацию, вызывающую полное угнетение

роста тест-культур.

Сочетанное действие мирамистина и антибиотиков в отношении возбудителей энтероинфекций выявляли методом серийных разведений в МПБ с добавлением суббактериостатической концентрации мирамистина.

Испытания по изучению адаптации и реадaptации сальмонелл и эшерихий (полевые штаммы) к мирамистину проводили путем культивирования микроорганизмов на мясо-пептонном бульоне, содержащем все возрастающие суббактериостатические концентрации препарата, затем на МПБ, не содержащем мирамистин. Всего было проведено 90 пассажей.

По коэффициенту резистентности - отношению конечной максимальной не препятствующей росту бактерий концентрации мирамистина к исходной - оценивали степень устойчивости микроорганизмов.

Для изучения влияния мирамистина на нормальную микрофлору кишечника у животных отбирали образцы фекалий. Время от момента взятия материала до посева не превышало 2-х часов. Из материала готовили гомогенат в фарфоровой ступке с физиологическим раствором из расчета 10:1 (объем/вес), а затем - серийные разведения. По 0,1 мл, из соответствующих разведений исследуемого материала, засекали на различные селективные питательные среды (среда Блаурокка - для бифидобактерий, среда MRS - для лактобактерий, солевой агар - для стафилококков и энтерококков, среды Эндо и Плоскирева - для энтеробактерий) в чашки Петри. После того как посевы впитывались в среду, чашки помещали в термостат при 37°C и инкубировали в течение 24-72 ч. Число микроорганизмов в 1 г испражнений определяли согласно методике подсчета микроорганизмов при изучении аутофлоры человека (И.А. Бочков и др., 1989).

Специфическую активность препарата изучали на моделях сальмонеллезной и эшерихиозной инфекции белых мышей, массой тела 18-20 г, после предварительной проверки их на носительство сальмонелл. Для заражения использовали полевые штаммы *E. coli* 015 (ООО "Озерское") и *S. ch. suis* var. *Kunsendorf* (ООО "Вишневское"), выделенные от павших поросят. Перед проведением опыта определяли минимальную летальную дозу (Dim) суточных культур возбудителей. При этом установили, что для эшерихий она составила 1,2 млн., а для сальмонеллы - 300 тыс. микробных клеток (по оптическому стандарту мутности 1,2 мл и 0,3 мл, соответственно). Взвесь бактерий вводили внутрибрюшинно на изотоническом растворе натрия хлорида в дозе 1,2 мл/мышь для кишечной палочки и 0,3 мл/мышь для сальмонеллы.

Мирамистин применяли перорально индивидуально (с помощью шприца со спиленной иглой) 2 раза в день в течение 7 дней в виде 0,01%-ного водного раствора (официальный препарат) в дозах 0,3 и 0,6 мл/мышь за 3 часа до заражения, одновременно с заражением, через 3 часа после заражения и через 6 часов после заражения, контрольные группы препарат

не получали.

Для определения специфичности гибели лабораторных животных проводили бактериологическое исследование крови сердца, печени, почек, селезенки. Индекс специфической защиты мирамистина определяли по формуле В.Д. Белякова (1961).

Опыты по изучению профилактической и лечебной эффективности мирамистина при сальмонеллезе поросят проводили на поросятах-отъемышах в хозяйственных условиях содержания и кормления в спецхозе ОАО «9 Пятилетка» Лискинского района, при колибактериозе - на поросятах-сосунах, принадлежащих ООО "Озерское" Бутурлиновского района Воронежской области.

Поросята-сосуны содержались совместно со свиноматками в станках типовых свинарников-маточников, поросята-отъемыши - группами (12-15 гол.), в станках, безвыгульно в типовых помещениях. Зоогигиенические условия не всегда отвечали требуемым нормативам. Кормление осуществлялось сухим и запаренным кормом, водопой вволю. Рационы сбалансированы по основным питательным веществам, витаминам, макро- и микроэлементам, согласно существующим нормам.

Опыты проведены согласно требованиям к врачбно-биологическому эксперименту (И.Т. Фролов, 1965) по постановке контроля, подбору аналогов, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период исследований.

При определении клинического состояния у животных ректально измеряли температуру тела, определяли частоту пульса и дыхания, частоту дефекаций и характер фекалий.

Изучение действия мирамистина на морфологические, биохимические показатели крови и общую неспецифическую резистентность организма проведено на клинически здоровых и больных сальмонеллезом поросятах.

При этом в крови подсчитывали содержание эритроцитов и лейкоцитов, с помощью камеры Горяева, количество гемоглобина - с использованием гемометра Сали. Определение лейкоцитарной формулы проводили методом дифференциального четырехпольного подсчета 200 лейкоцитов под иммерсионной системой микроскопа в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, с вычислением процентного содержания каждого вида.

Для оценки уровня неспецифической резистентности определяли: бактерицидную активность сыворотки крови (БАск) по методу О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой (1966), комплементарную активность (КАск) - по О.В. Бухарину и Н.В. Васильеву (1974), лизоцимную активность (ЛАск) - по О.В. Бухарину (1974), фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) - по В.С. Гостеву (СИ. Плященко, В.Т. Сидоров, 1979). Кроме того в сыворотке крови учитывали рефрактометрически содержание общего белка по И.П. Кондрахину, Н.В. Курилову, А.Т. Малахову (1985), белковые фракции по

экспресс-методу Олла и Маккорда в модификации С.А. Карпюка (1962).

Диагноз на колибактериоз и сальмонеллез устанавливали комплексно на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических, а также результатов бактериологических и серологических исследований.

Для бактериологического исследования от павших поросят отбирали головной мозг, сердце, печень с желчным пузырем, селезенку, почку, мезентериальные лимфатические узлы, трубчатую кость.

Бактериологическое исследование патологического материала проводили согласно методическим указаниям "Лабораторная диагностика сальмонеллезоз человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды" (1990), "Методическим указаниям по бактериологической диагностике смешанной кишечной инфекции молодняка животных, вызываемых патогенными энтеробактериями" (1999), "Методическим указаниям по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных" (2000).

Посевы из патологического материала делали на обычные питательные среды (мясо-пептонный бульон и мясо-пептонный агар) и дифференциально-диагностические плотные питательные среды (Эндо, Левина и Плоскирева), комбинированные среды (Олькеницкого, Симонса). Посевы инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 18-24 часов, после чего определяли культуральные свойства выделенных микроорганизмов.

Учитывали тинкториальные свойства микроорганизмов в мазках, окрашенных по Граму и Романовскому-Гимза.

Несколько типичных колоний каждого вида микроорганизмов отсеивали в пробирки на скошенный МПА для дальнейшего изучения.

Ферментативные свойства выделенных чистых бактерий изучали на средах с глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом, мальтозой, ксилозой, дульцитом, цитратном агаре Симонса (усвоение цитратов), на среде для определения сероводорода. Индол определяли добавлением к двухсуточной культуре бактерий в МПБ реактива Эрлиха.

Патогенность выделенных культур микроорганизмов определяли на белых мышах. Их заражали взвесью бактерий в концентрации 1 млрд. микробных клеток на см³ в дозе 0,5 млрд. микробных клеток.

Видовую принадлежность бактерий устанавливали с помощью определителя D. Bergeys (1974) и определителя зоопатогенных микроорганизмов под редакцией М.А. Сидорова (1995).

Серологическую типизацию сальмонелл и эшерихий проводили в реакции агглютинации с О-комплексными и О- и Н-агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками и О-коли сыворотками согласно "Наставления по применению сывороток сальмонеллезных О-комплексных и О- и Н-агглютинирующих для идентификации сальмонелл в РА на стекле" (1990), "Наставления по применению агглютинирующих О-коли

сывороток" (1998), "Наставления по применению сывороток агглютинирующих эшерихиозных к адгезивным антигенам K88, K99, 987P, F41 и A20" (1997).

Чувствительность выделенных культур к антибиотикам и химиопрепаратам определяли методом индикаторных бумажных дисков в чашках Петри с плотными питательными средами (среда АГВ). Результаты оценивали согласно таблице "Интерпретации значений диаметров зон задержки роста при определении чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам".

Исследование сыворотки крови от больных сальмонеллезом поросят проводили трехкратно с интервалом в 2 недели в реакции агглютинации с сальмонеллезным антигеном, который готовили из культур эпизоотических штаммов. Посев сальмонелл проводили на мясо-пептонный агар. Из полученных суточных культур готовили взвесь на физиологическом растворе, которую доводили до концентрации в 2 млрд. микробных клеток в 1 мл по оптическому стандарту мутности.

Исследования влияния мирамистина на свежесть и сохранность мяса проведены согласно комплексу органолептических и лабораторных методов - ГОСТ 23392-78 "Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести"; ГОСТ 7269-79 "Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести"; ГОСТ 21237-75 "Мясо. Методы бактериологического анализа"; вкусовые качества - по 9 бальной шкале ВНИИМП.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием редактора Microsoft Excel (1997) на персональном компьютере IBM.

2.2 Этиология колибактериоза и сальмонеллеза поросят в хозяйствах Воронежской области

При анализе учетных данных бактериологического отдела Воронежской областной ветеринарной лаборатории за 2000 - первое полугодие 2004 г. и результатов собственных исследований установлено следующее.

Из 308 возбудителей колибактериоза, выделенных от поросят, 40,3% отнесены к *E. coli* K88, 4,6% - *E. coli* K99, 2,3% - *E. coli* A20, 1,95% - *E. coli* 04, 1,6% - *E. coli* O20, 1,3% - *E. coli* 018, по 0,6% - *E. coli* 0157, *E. coli* O2, *E. coli* 08, по 0,32% - *E. coli* 01, *E. coli* 0101, *E. coli* 0142, *E. coli* 035, *E. coli* 047, *E. coli* 055, *E. coli* F41. На долю нетипируемых эшерихий приходится 15,3%.

Из 72 возбудителей сальмонеллеза, выделенных от павших, вынужденно убитых и клинически больных поросят, 25 культур типировали как *S. typhisuis*, что составило 34,7%, 24 - *S. cholerae suis* (18 - variant Kunsendorf - 25%, 6 - variant America - 8,3%) - 33,3%, 7 - *S. typhimurium* - 9,7%, 7 - *S. paratyphi A* - 9,7%, 3 - *S. virchow* - 4,2%, 3 - *S. Johannesburg* 4,2%, 2 - *Salmonella* (нетипируемая) - 2,8%, 1 - *S. emmastad* -

1,4%.

Таким образом, наиболее часто колибактериоз у поросят в хозяйствах области вызывают *E. coli* K88 (в 40,3% случаев), сальмонеллез - *S. typhisuis* (34,7% случаев) и *S. cholerae suis* (33,3% случаев). Другие виды и сероварианты патогенных энтеробактерий регистрируются значительно реже.

2.3 Антимикробная активность мирамистина

При сравнительной оценке антимикробной активности двух препаратов из группы поверхностно-активных веществ - мирамистина и этония в отношении *E. coli* 0866 (музейный штамм) и *E. coli* K88, *S. ch. suis*, *St. aureus* (полевые штаммы), установлено, что мирамистин по своим антибактериальным свойствам превосходит этоний в 2-10 раз.

В опыте *in vitro* изучена чувствительность к мирамистину 60 культур микроорганизмов (25 - эшерихии, 32 - сальмонеллы, 3 - стафилококки), в том числе и антибиотикоустойчивых, выделенных от животных.

При этом установлено, что в концентрации 25,0 мкг/мл (52,0%) препарат наиболее часто задерживает рост эшерихий и оказывает на них бактерицидное действие.

В отношении сальмонелл минимальная подавляющая рост концентрация мирамистина в большинстве случаев равнялась 12,5 мкг/мл (31,25%) и 25,0 мкг/мл (40,63%), значительно реже 6,25 и 50 мкг/мл (по 12,5%), 15,6 мкг/мл (3,1%). МБцК для них составляет преимущественно 50,0 мкг/мл (59,4%).

Необходимо отметить, что минимальные бактериостатические концентрации мирамистина были равны бактерицидным для 20 культур (33,3%), были ниже в 2 раза для 29 культур (48,3%), в 4 раза — для 9 культур (15,0%), в 8 раз - для 2 культур (3,33%).

Проведенными исследованиями установлено, что мирамистин обладает выраженным антибактериальным действием на возбудителей колибактериоза и сальмонеллеза, включая антибиотикорезистентные штаммы. Минимальная бактериостатическая концентрация препарата в отношении эшерихий составляет 3,12-50 мкг/мл, сальмонелл - 6,25-50 мкг/мл, минимальные бактерицидные - 12,5-50,0 мкг/мл для обоих видов микроорганизмов.

Известный препарат из группы ПАВ - этоний - по антибактериальному действию на кишечную микрофлору значительно уступает мирамистину.

2.4 Адаптация и реадaptация микроорганизмов к мирамистину

Известно, что использование антибактериальных препаратов может привести к возникновению резистентных к ним штаммов микроорганизмов. В литературе имеются сообщения о приобретении

устойчивости возбудителей инфекций и к препаратам из группы поверхностно-активных веществ (Г.Т. Писько, 1977; И.Ю. Мельник, 1992).

Поэтому, учитывая вышесказанное, нами было проведено исследование возможности адаптации и реадaptации *S. typhisuis* (ОАО "9 Пятилетка"), *E. coli* K88 (ч/с с. Землянск) и *St. aureus* (ч/с г. Воронеж), выделенных от больных поросят, к мирамистину.

Для этого предварительно проводили определение антимикробной активности препарата в отношении указанных культур микроорганизмов методом последовательных двукратных разведений в МПБ.

Минимальная бактериостатическая концентрация для эшерихии составила 6,25 мкг/мл, для сальмонеллы - 12,5 мкг/мл, золотистого стафилококка - 1,56 мкг/мл.

За период эксперимента отмечено повышение устойчивости культур к препарату, хотя она не достигает высокого уровня.

Минимальная подавляющая рост бактерий концентрация мирамистина в отношении *E. coli* K88 повысилась к 30 пассажу с 6,25 до 25,0 мкг/мл (коэффициент резистентности равен 4) и оставалась на этом уровне до 50 пересева.

МБСК препарата для *S. typhisuis* увеличилась с 12,5 до 50,0 мкг/мл (КР=4) к 40 пассажу и держалась на этом уровне до 60 пересева.

Увеличение МБСК в отношении *Staphylococcus aureus* с 1,56 до 25,0 мкг/мл произошло к 35 пересеву (КР=12) и составляла 25,0 мкг/мл до 50 пассажа.

У полученных после пассирования культур при изучении культуральных свойств отмечено замедление скорости роста по сравнению с исходными. При выращивании на МПБ они, как и исходные, вызывали равномерное помутнение среды с образованием характерного осадка на дне.

У стафилококка отмечено снижение гемолитической способности. Адаптированный штамм золотистого стафилококка имел замедленную реакцию плазмокоагуляции (до 24 часов, тогда как исходный - 2,5 часа).

Развитие устойчивости к мирамистину при пассировании культур на средах, содержащих препарат, сопровождалось изменением морфологии клеток. Так, клетки *S. typhisuis*, *E. coli* K88 уменьшались в длину, некоторые приобретали кокковидную форму, объединялись в цепочки по 3-4 штуки; более интенсивно окрашивались по Граму. У *Staphylococcus aureus* отмечали уменьшение клеток в размере, их объединение в цепочки, более интенсивное окрашивание по Граму.

Для решения вопроса о стабильности приобретенных свойств у эшерихии, сальмонеллы, стафилококка были проведены последовательные пассажи полученных адаптированных штаммов на МПБ, не содержащем мирамистин.

Минимальная подавляющая рост концентрация препарата для *E. coli* K88 снизилась с 25,0 мкг/мл до 12,5 мкг/мл через 10 пассажей, исходного значения достигла к 20 пересеву.

Минимальная бактериостатическая концентрация мирамистина в отношении *S. typhisuis* снизилась с 50 мкг/мл до 25 мкг/мл к 10 пассажу, первоначального значения достигла к 20 дню пересевов.

Снижение МБсК мирамистина в отношении *Staphylococcus aureus* с 25,0 мкг/мл до 1,56 мкг/мл произошло к 15 пассажу.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что при использовании мирамистина в низких концентрациях возможно формирование резистентности к препарату у возбудителей инфекций. Однако, повышение устойчивости не достигает высокого уровня (КР=4 - для эшерихий и сальмонелл и КР=12 - для золотистого стафилококка) и является нестойким признаком, так как адаптированные к мирамистину штаммы способны реверсировать в исходные.

2.5 Сочетанное действие антибиотиков и мирамистина

Сочетанное действие антибиотиков (неомицина сульфат, оксациллина натриевая соль, окситетрацилина гидрохлорид, стрептомицина сульфат, тилозина тартрат, полимиксина М сульфат) и мирамистина изучено в отношении патогенных энтеробактерий (*Salmonella typhisuis*, *Echerichia coli* K88) и музейного штамма (*Staphylococcus aureus*).

Проведенными исследованиями установлено, что использование сочетаний мирамистина с тетрациклинами, макролидами, антибиотиками-полипептидами обеспечивает синергидный эффект (в 2-4 раза), с аминогликозидами и пенициллинами в 2-8 раз.

Усиление антимикробного эффекта антибиотиков при их применении с мирамистином отмечено в 2-6 раз для эшерихий, в 2-4 раза - для сальмонелл, в 2-8 раз - для стафилококков.

Полученные данные позволяют считать, что мирамистин, как и другие детергенты, повышает проникающую способность антибиотиков в клетки микроорганизмов, что подтверждает целесообразность применения таких сочетаний в клинической практике, главным образом, при септическом течении болезней.

2.6 Влияние мирамистина на нормальную кишечную микрофлору морских свинок и поросят.

Изучение влияния перорального применения мирамистина на нормальную микрофлору животных было проведено на здоровых морских свинках (доза 1 мл/гол) и поросятах (доза 3 мл/кг). Препарат применяли 2 раза в день 7 суток подряд.

До начала дачи мирамистина, на 7-й день его применения и спустя 7 дней после отмены препарата, у животных определяли количественный и качественный состав нормальной микрофлоры толстого кишечника.

В норме микрофлора толстого кишечника морских свинок была представлена энтеробактериями и энтерококками, бифидобактериями, лактобактериями, стафилококками.

После 7-дневного применения мирамистина у животных в толстой кишке снизилось, по сравнению с контролем, количество энтеробактерий (на 20,3%), энтерококков (на 14,8%), лактобактерий (на 14,9%), бифидобактерий (на 18,2%), стафилококков (на 26,4%).

Во время проведения опыта состояние морских свинок не изменялось: аппетит, подвижность, частота дефекаций и характер фекалий не отличались от таковых в контроле. Через 7 дней после отмены препарата у морских свинок отмечено восстановление нормальной микрофлоры кишечника до исходных показателей.

Микрофлора кишечника у здоровых поросят в своем составе содержала энтеробактерий, энтерококки, стафилококки, лактобактерий, бифидобактерий, стрептококки, дрожжи.

После семи дней применения препарата количественный состав микроорганизмов толстого кишечника несколько изменился. Произошло снижение количества энтеробактерий на 9,9%, энтерококков на 3%, стрептококков на 2,5%, бифидобактерий на 8,8%, лактобактерий на 6%, стафилококков на 17,1%, дрожжей на 11,9%. Через 7 дней после отмены препарата количественный и качественный состав микрофлоры толстого кишечника у поросят восстанавливался и практически не отличался от такового в контроле.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что при пероральном применении мирамистина в течение недели морским свинкам и поросятам отмечается незначительное количественное снижение нормальной микрофлоры кишечника, восстанавливаемое полностью к 7-му дню после отмены препарата.

Наши данные совпадают с результатами исследований С.Р. Хусина (1999) по применению мирамистина при лечении воспалительных заболеваний толстой кишки у людей и отметившего, что антибактериальное действие препарата ведет к нормализации микробного состава кишечника у пациентов.

2.7 Специфическая активность мирамистина при экспериментальных энтероинфекциях белых мышей

В опытах на 200 белых мышах живой массой 18-20 г изучена терапевтическая активность мирамистина при экспериментальных сальмонеллезе и колибактериозе, определен индекс специфической защиты при этих энтероинфекциях.

Для заражения использовали полевые штаммы *E. coli* 015 (ООО "Озерское") и *S. ch. suis* (ООО "Вишневское"), выделенные от павших поросят.

В контрольных группах, не подвергавшихся лечению мирамистином, зафиксировали 100%-ную гибель мышей. При этом из крови сердца, легких, печени, почек и селезенки выделили исходные культуры.

Установлено, что наибольшую активность мирамистин проявил

при эшерихиозной инфекции. Применение препарата в дозе 0,6 мл/мышь за 3 часа до заражения и одновременно с заражением обеспечивает сохранность 90% животных. Несколько ниже индекс защиты был при использовании препарата в дозе 0,6 мл/мышь через 3 и 6 часов после заражения (80%) и в дозе 0,3 мл/мышь за 3 часа до заражения и одновременно с ним (80%). Наименьшее количество выживших мышей отмечено при использовании мирамистина в дозе 0,3 мл/мышь через 6 часов после заражения.

При сальмонеллезе мышей высокую активность (80%) препарат проявил в дозе 0,6 мл/мышь при его назначении одновременно с заражением и за 3 часа до него. Снижение индекса защиты до 70% отмечено при использовании мирамистина в дозе 0,6 мл/мышь через 3 часа после заражения, до 50% - при применении в той же дозе через 6 часов после заражения. Назначение препарата в дозе 0,3 мл/мышь обеспечивает индекс защиты в 40-60%.

На основании проведенных исследований установили, что более высокую активность мирамистин проявляет в дозе 0,6 мл/мышь. Наиболее выраженный лечебный эффект 0,01%-ный водный раствор препарата оказывает при эшерихиозной инфекции (индекс специфической защиты 60-90%), при сальмонеллезной инфекции его эффективность несколько ниже (40-80%).

Полученные данные свидетельствуют о сравнительно высокой эффективности мирамистина, как антибактериального препарата, при экспериментальных энтероинфекциях у белых мышей.

2.8 Отработка оптимальных профилактических и лечебных доз мирамистина при энтероинфекциях у поросят

В предварительных испытаниях мирамистина при лечении язвы желудка у людей, медицинскими исследователями установлено, что 0,01%-ный водный раствор препарата в дозе 20 мл на человека 2 раза в день до приема пищи обеспечивает заживление и рубцевание язв уже к 7-10 дню терапии (В.В. Свистов, 1998). С учетом этого начальная доза для испытания мирамистина составила 0,5 мл/кг живой массы поросенка (20 мл / 70 кг - 0,3 мл/кг).

2.8.1. Колибактериоз

На СТФ, принадлежащей ООО "Озерское" Бутурлиновского района, неблагополучной по колибактериозу, на 4-х группах клинически здоровых поросят в возрасте 1-3 дня испытали 4 дозы мирамистина при профилактике колибактериоза - 0,5 мл/кг, 1,0 мл/кг, 1,5 мл/кг, 2,0 мл/кг. Препарат задавали индивидуально перорально 1 раз в день в течение 5 дней. В течение 30 дней за животными вели клиническое наблюдение, учитывая заболеваемость, сохранность молодняка, привесы живой массы.

Наилучший профилактический эффект мирамистина отмечен в группах животных, которым применяли препарат в дозе 1,5 мл/кг живой массы (91,67%) и 2,0 мл/кг (91,3 %), при среднесуточных привесах 167,0 г и

165,4 г, соответственно. В других группах отмечена более низкая профилактическая эффективность препарата и невысокие среднесуточные привесы животных.

Следовательно, наиболее оптимальной профилактической дозой мирамистина при колибактериозе поросят следует считать - 1,5 мл/кг (0,15 мг/кг) 1 раз в день в течение 5 дней.

Определение оптимальной терапевтической дозы мирамистина при колибактериозе поросят проведено на 5 группах больных животных в возрасте 2-5 дней. Испытано 5 доз препарата - 1,5 мл/кг, 2,0 мл/кг, 2,5 мл/кг, 3,0 мл/кг, 3,5 мл/кг. Препарат применяли 2 раза в день индивидуально перорально до кормления в течение 7 дней. За животными в течение 14 дней вели клиническое наблюдение, учитывали сроки выздоровления, проводили измерение температуры тела и взвешивание.

Установлено, что продолжительность лечения в первой группе составила $4,31 \pm 0,09$ дней при эффективности препарата 50%, во второй группе $3,62 \pm 0,09$ дней - 69,2%, в третьей группе $3,23 \pm 0,07$ дней - 76,9%, в четвертой группе $2,2 \pm 0,07$ дней - 85,7%, в пятой групп $2,41 \pm 0,06$ - 85,1%, соответственно. Наивысшие привесы отмечены у животных четвертой (162,0 г/гол в сутки) и пятой групп (160,5 г/гол в сутки).

Поэтому, для лечения больных колибактериозом поросят наиболее целесообразно использовать мирамистин в дозе 3,0 мл/кг (0,30 мг/кг) 2 раза в день в течение 7 суток.

2.8.2 Сальмонеллез

На свиномкомплексе ОАО "9 Пятилетка" Лискинского района, неблагополучном по сальмонеллезу, на четырех группах поросят отъемного возраста (35 дней) испытали эффективность четырех доз мирамистина при профилактике сальмонеллеза - 0,5 мл/кг, 1,0 мл/кг, 1,5 мл/кг, 2,0 мл/кг. Препарат задавали с кормом 1 раз в день в течение 5 дней. Клиническое наблюдение за животными вели в течение месяца.

Установлено, что использование мирамистина в дозе 0,5 мл/кг профилакировало сальмонеллез в 52,38% случаев при среднесуточном приросте 220 г, 1 мл/кг - 60% при среднесуточном приросте 225,6 г, 1,5 мл/кг - 86,98% при среднесуточном приросте 251,2 г, 2 мл/кг - 85,7% случаев при среднесуточном приросте 248,4 г.

Таким образом, наиболее целесообразна и эффективна при профилактике сальмонеллеза у поросят доза мирамистина - 1,5 мл/кг (0,15 мг/кг) живой массы 1 раз в день с кормом в течение 5 дней.

Определение оптимальной терапевтической дозы мирамистина при сальмонеллезу поросят проведено на пяти группах животных.

Животные первой группы (n=19) получали препарат в дозе 1,5 мл/кг живой массы 2 раза в день в течение 7 дней с кормом, второй группы (n=21) - в дозе 2,0 мл/кг, третьей группы (n=23) - 2,5 мл/кг, четвертой (n=22) - 3,0 мл/кг, пятой (n=21) - 3,5 мл/кг.

Эффективность лечения в первой группе составила 47,37% при

продолжительности лечения $5,66 \pm 0,10$ дней, во второй группе $66,67\%$ - $5,0 \pm 0,12$ дней, в третьей $73,91\%$ - $4,02 \pm 0,10$ дней, в четвертой $86,36\%$ - $3,02 \pm 0,08$ дней, в пятой $85,7\%$ - $3,41 \pm 0,09$ дней, соответственно.

Следовательно, для терапии сальмонеллеза у поросят наиболее целесообразна доза $3,0$ мл/кг ($0,30$ мг/кг) живой массы 2 раза в день в течение 7 суток при даче препарата с кормом.

2.9 Эффективность мирамистина при профилактике колибактериоза у поросят.

Изучение профилактической эффективности мирамистина проведено на клинически здоровых поросятах 1-3 дневного возраста, принадлежащих ООО "Озерское" Бутурлиновского района Воронежской области, в трех сериях опытов.

Для первого опыта было сформировано две группы животных.

Поросятам первой группы ($n=12$) применяли $0,01\%$ -ный водный раствор мирамистина индивидуально перорально 1 раз в день в течение 5 дней в дозе $1,5$ мл/кг живой массы.

Поросята второй группы ($n=11$) - контроль - препарат не получали.

За животными в течение месяца вели клиническое наблюдение, учитывали скорость роста, заболеваемость и сохранность.

Заболеваемость поросят колибактериозом в опытной группе составила $8,33\%$, что в $3,27$ раза меньше, чем в контрольной ($27,27\%$). Использование мирамистина оказывало положительное влияние на привесы живой массы. Среднесуточные привесы в опытной группе составили $160,4$ г/гол, что на $12,32\%$ выше, чем в контрольной ($142,8$ г/гол.).

Во второй опыт было взято 22 клинически здоровых животных. Поросятам опытной группы ($n=11$) применяли мирамистин по схеме первого опыта, животные контрольной группы препарат не получали.

В ходе исследований установлено, что мирамистин обеспечивал сохранность поросят $90,9\%$ (контроль - $81,8\%$), при более высоких приростах живой массы, чем в контрольной группе - $177,0$ и $156,2$ г/гол, соответственно.

В третьем опыте поросятам первой группы ($n=12$) применяли мирамистин, соответственно схеме первого опыта, второй группы ($n=12$) - препарат не давали.

Профилактическая эффективность мирамистина в данном эксперименте составила $91,67\%$ против $75,0\%$ в контроле. Среднесуточные привесы в опытной группе были выше на $17,5$ г.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что $0,01\%$ -ный водный раствор мирамистина является эффективным средством для профилактики колибактериоза у поросят, так как обеспечивает их сохранность на уровне $90,9-91,67\%$, положительно влияя на среднесуточные привесы массы тела животных.

2.10 Лечебная эффективность мирамистина при колибактериозе поросят.

Терапевтическая эффективность мирамистина изучена в двух сериях опытов на поросятах 3-7 дневного возраста, больных колибактериозом, в ООО "Озерское" Бутурлиновского района Воронежской области.

У больных животных отмечали угнетение, снижение или полное отсутствие аппетита, цианоз слизистых оболочек, признаки поражения желудочно-кишечного тракта - профузный понос (фекалии жидкие желто-серого цвета, иногда со слизью и пузырьками газа), у некоторых животных - рвоту.

При патологоанатомическом вскрытии павших поросят-сосунов отмечали острый катарально-геморрагический гастроэнтероколит (слизистые оболочки желудка и тонкого отдела кишечника с точечными кровоизлияниями, набухшие, покрыты слизью). Брыжеечные лимфатические узлы увеличены, на разрезе сочные с кровоизлияниями.

При бактериологическом исследовании патологического материала от двух трупов поросят выделены возбудители колибактериоза *E. coli* K99, *E. coli* 020, *E. coli* 0157 и от двух трупов поросят *E. coli* 015. *E. coli* K99, *E. coli* 020, *E. coli* 0157 были чувствительны к гентамицину, ампициллину, левомицетину; слабо чувствительны к фурагину, стрептомицину, полимиксину, неомицину, энрофлоксацину; устойчивы к тетрациклину и тилозину. *E. coli* 015 - чувствительна к полимиксину, ампициллину; слабо чувствительна к энрофлоксацину; устойчива к гентамицину, неомицину, фурагину, стрептомицину, тетрациклину, левомицетину и тилозину.

Для первого опыта было сформировано две группы больных животных.

Поросятам первой группы (n=13) применяли мирамистин в дозе 3 мл/кг живой массы, второй группы (n=13) - полимиксин - 2 мл/гол. Препараты задавали индивидуально перорально 2 раза в день в течение 7 дней.

За животными в течение 30 дней вели клиническое наблюдение, учитывали температурную реакцию, длительность и течение болезни, сроки выздоровления, падеж и среднесуточный прирост массы тела (взвешивание проводили до и через 30 дней после начала эксперимента).

При этом наилучший лечебный эффект установлен при использовании мирамистина. В группе из 13 животных, взятых в опыт, выздоровело 11 поросят, что составило 84,6%. Использование полимиксина обеспечивало терапевтический эффект в 76,9%. Улучшение состояния животных (появление аппетита, прекращение диареи) в первой группе наступало на 2-3 сутки лечения, во второй группе на 4-5 сутки лечения, при этом одно животное пало. Среднесуточные приросты составили 142 г/гол и 126 г/гол, соответственно.

Во второй опыт было взято 28 животных (по 14 голов в каждой

группе). Применение препаратов осуществляли соответственно схеме первого опыта. Установлено, что применение мирамистина обеспечивало терапевтический эффект (85,71%) и среднесуточные привесы (146 г/гол). При применении полимиксина выздоровление наступило у 78,58% подопытных животных, один поросенок пал, среднесуточные привесы составили 134 г/гол.

Наши исследования показывают, что мирамистин является эффективным лечебным средством при колибактериозе поросят.

2.11 Эффективность мирамистина при профилактике сальмонеллеза у поросят.

Изучение профилактической эффективности детергента мирамистина проведено на клинически здоровых поросятах-отъемышах, принадлежащих ОАО "9 Пятилетка" Лискинского района Воронежской области.

В опыте было использовано 384 поросенка-отъемыша. Животным первой группы (96 голов) ежедневно с кормом применяли мирамистин в дозе 1,5 мл/кг живой массы 1 раз в день в течение 5 суток. Поросята второй группы (288 голов - контроль) - препарат не получали.

За животными вели клиническое наблюдение в течение месяца, учитывали среднесуточные приросты живой массы, заболеваемость и сохранность. До применения препарата, а также на 15 и 30 дни опыта проводили гематологические и иммунологические исследования крови от 20 животных каждой группы.

В результате наших исследований установлено, что в опытной группе сохранность поголовья составила 88,53%, привесы - 235,0 г на голову в сутки.

В контрольной группе сохранность поголовья - 68,1% (196 голов). При этом заболело сальмонеллезом 92 животных (31,94%), из которых были вынужденно убиты - 51 (17,7%-от общего количества животных в группе; 55,4% - от количества заболевших). Привесы составили - 220,0 г на голову в сутки, что на 6,8% ниже, чем при применении мирамистина.

Анализируя результаты исследований крови можно констатировать, что мирамистин оказывает позитивное действие на ее показатели, в частности препарат оказывает эритропоэтическое действие. Под его влиянием повышается с $5,6 \pm 0,082$ млн/мкл до $6,1 \pm 0,092$ (на 15 день опыта) и $6,18 \pm 0,2$ (на 30 день опыта) количество эритроцитов и с **$98,0 \pm 1,31$** до $108,0 \pm 0,713$ и $101,0 \pm 2,6^*$, соответственно, количество гемоглобина.

Мирамистин вызывает увеличение количества лейкоцитов с $14,3 \pm 1,035$ до $16,3 \pm 1,393$ (на 15 день опыта) и $16,6 \pm 1,3$ (на 30 день опыта) по сравнению с контролем ($15,38 \pm 1,202$ и $15,1 \pm 1,36$, соответственно), что свидетельствует о повышении иммунитета.

Показатели лейкоформулы изменяются незначительно, в пределах нормы. Палочкоядерные нейтрофилы ($5,3 \pm 0,46$) имеют тенденцию к снижению, как к 15 дню ($4,8 \pm 0,8$), так и к 30 дню опыта ($4,21 \pm 0,7$).

Количество сегментоядерных нейтрофилов изменяется незначительно. Отмечена тенденция сначала к снижению с $56,9 \pm 1,75$ до $54,8 \pm 2,05$ (на 15 день эксперимента), затем к повышению до $57,3 \pm 2,02$, количества лимфоцитов.

В протеинограмме отмечены изменения в пределах физиологических показателей количества альбуминов, α -глобулинов, β -глобулинов. Количество γ -глобулиновых фракций имело к 15 дню опыта тенденцию к повышению с $25,4 \pm 0,456$ до $27,1 \pm 0,586$ (на 15 день), затем снижалось до $26,2 \pm 0,75$ (к 30 дню опыта).

Мирамистин стимулирует гуморальный иммунитет, о чем свидетельствует повышение комплементарной (с **$21,2 + 1,551$** до $24,3 \pm 1,421^{***}$ к 15 дню эксперимента), бактерицидной (с $53,24 \pm 5,3$ до $75,02 \pm 4,3$ к 15 дню), лизоцимной (с **$10,12 + 0,518$** до **$11,36 + 0,329$** на 15 день и $12,03 \pm 0,4$ на 30 день опыта) активности сывороток крови. Лизоцим - индикатор макрофагальной функции организма, повышается за счет увеличения активности и количества моноцитов и нейтрофилов.

Повышение фагоцитарной активности лейкоцитов (с $72,4 \pm 1,22$ до $83,2 \pm 2,8$ в опытной группе и $79,3 \pm 1,22$ - в контрольной), фагоцитарного числа (с $5,21 \pm 0,4$ до $8,36 \pm 0,8$ и $7,7 \pm 1,1$, соответственно) и фагоцитарного индекса (с $3,9 \pm 0,62$ до $4,9 \pm 0,5$ и $4,8 \pm 0,6$, соответственно) к 15 дню эксперимента свидетельствует о более выраженном повышении клеточного иммунитета при применении мирамистина. Через 30 дней эти показатели несколько снижаются - ФАЛ до $81,15 \pm 0,6$ в опытной группе и $74,26 \pm 3,5$ - в контрольной; ФЧ до $7,4 \pm 0,5$ и $6,37 \pm 0,33$ и ФИ до $5,1 \pm 0,9$ и $4,27 \pm 0,5$, соответственно.

Таким образом, мирамистин является эффективным средством для профилактики сальмонеллеза поросят, что подтверждается не только результатами клинических исследований (профилактическая эффективность 88,53%, против 68,1% в контроле), но и результатами исследований крови (эритропоэтическое действие, стимуляция клеточного и гуморального иммунитета).

2.12 Лечебная эффективность мирамистина при сальмонеллезе у поросят

Изучение терапевтической эффективности мирамистина при сальмонеллезе у поросят проведено в условиях ОАО «9 Пятилетка» Лискинского района Воронежской области.

Диагноз на сальмонеллез устанавливали комплексно на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, результатов серологических и бактериологических исследований.

При изучении клинического состояния у больных сальмонеллезом поросят-отъемышей (возраст 45 дней) отмечали общую слабость, угнетение, снижение или полное отсутствие аппетита, повышение температуры тела до $41-41,3^{\circ}\text{C}$. У животных выявляли покраснение

конъюнктивы с синюшным оттенком, расстройство сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта (кал жидкий, светло-желтого цвета, иногда с примесью слизи, имеет зловонный запах, у некоторых поросят отмечалась рвота), застойные явления (цианоз кожи в области живота, ушей, хвоста).

При патологоанатомическом вскрытии трупов поросят обнаруживали точечные и полосчатые кровоизлияния на серозных и слизистых оболочках (эпикард, эндокард, плевра), что свидетельствует о процессе интоксикации. Также регистрировали катаральный гастроэнтероколит (слизистые оболочки отечны, гиперемированы, с кровоизлияниями, покрыты слизью). Мезентериальные лимфатические узлы увеличены в объёме, сочные на разрезе, гиперемированы, имеют кровоизлияния. Селезёнка увеличена, края закруглены, капсула напряжена, под ней кровоизлияния. Печень увеличена, окрашена неравномерно.

При бактериологическом исследовании патологического материала от павших и вынужденно убитых с диагностической целью поросят выделен возбудитель сальмонеллеза — *Salmonella typhisuis*. Культура была чувствительна к полимиксину, ампициллину, гентамицину, левомицетину, слабо чувствительна к энрофлоксацину, тетрациклину, устойчива к неомицину, стрептомицину, тилозину.

Для опыта было подобрано 2 группы животных. Поросятам первой группы (n=24) ежедневно 2 раза в день с кормом давали 0,01%-ный водный раствор мирамистина в дозе 3 мл/кг живой массы в течение 7 дней, второй группы (n=24) внутримышечно применяли гентамицин из расчета 1-2 мг/кг массы тела 2 раза в сутки 7 дней подряд.

За подопытными животными в течение 30 дней вели клиническое наблюдение, учитывали длительность болезни, выздоровление, сохранность поголовья, прирост массы тела. На 1, 15 и 30 дни эксперимента проводили взвешивание животных, брали кровь для морфологических и иммунологических исследований (от 10 животных каждой группы).

Проведенными исследованиями установлено, что применение мирамистина способствует улучшению общего состояния, нормализует температуру тела, обеспечивает прекращение диареи после 2-4-х назначений препарата, то есть на 2-3 сутки лечения. Терапевтическая эффективность мирамистина составила 83,3%, при среднесуточном приросте в 210,0 г/гол.

При использовании гентамицина из 24 животных выздоровело 17, что составило 70,8%, при среднесуточном приросте 195,0 г/гол. Улучшение состояния, нормализация температуры тела и прекращение диареи отмечено на 4-5 дни лечения.

Проведенные исследования крови показали, что мирамистин способствует плавному увеличению количества гемоглобина с $97,45 \pm 2,098$ до $100,1 \pm 1,871$ (на 15 день опыта) и $101,4 \pm 1,234$ г/л (на 30 день опыта). При использовании гентамицина количество гемоглобина варьирует

незначительно, с $97,45 \pm 2,098$ г/л в начале опыта до $98,6 \pm 2,002$ и $97,65 \pm 0,958$, соответственно.

При использовании мирамистина отмечено достоверное повышение количества эритроцитов с $5,11 \pm 0,18$ млн/мкл до $5,8 \pm 0,129^{***}$ (на 15 день) и $6,69 \pm 0,115^{***}$ (на 30 день). При применении схемы лечения с гентамицином, используемой в хозяйстве, колебания незначительные, не достигающие нижних пределов физиологических показателей $5,6 \pm 0,103^{***}$ (на 15 день) и $5,57 \pm 0,093^{***}$ (на 30 день).

Повышенное количество лейкоцитов $21,33 \pm 0,514$ тыс/мкл до лечения, свидетельствует об остром воспалительном процессе. Мирамистин позитивно влияет на этот показатель, при этом под действием препарата наблюдается снижение количества лейкоцитов до $15,3 \pm 0,218^{***}$ к 30 дню опыта, что является благоприятным признаком.

Нейтрофилия, за счет увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов ($36,8 \pm 1,470$ - фоновый показатель), указывает на остро протекающий инфекционный процесс. Нормализация количества указанных нейтрофилов (снижение до $30,10 \pm 0,778^{***}$ (на 15 день) и $29,7 \pm 0,729^{***}$ (на 30 день)) свидетельствует о хорошем лечебном эффекте мирамистина. Аналогичный характер изменений отмечен при применении гентамицина - снижение до $34,85 \pm 0,792$ к 15 дню опыта и $33,85 \pm 0,617$ к 30 дню опыта.

При использовании мирамистина отмечены эозинофилия к 15 дню эксперимента (повышение с $5,2 \pm 0,23$ до $7,75 \pm 0,280^{***}$), моноцитоз (увеличение количества моноцитов с $1,90 \pm 0,176$ до $2,40 \pm 0,134^*$ и $3,05 \pm 0,153^{***}$, соответственно 15 и 30 дню опыта), что указывает на затухание инфекционного процесса (моноцитарная защитная фаза).

Применение гентамицина вызывает сильное повышение количества эозинофилов до $12,25 \pm 0,270^{***}$ (к 15 дню) и $12,9 \pm 0,161^{***}$ (к 30 дню), что в совокупности с моноцитозом, понижением количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов, свидетельствует о возможной аллергической реакции организма на введение этого препарата и его токсическом действии.

При использовании обоих препаратов отмечено снижение количества лимфоцитов с $53,75 \pm 1,05$ до $48,7 \pm 1,054^{**}$ (для мирамистина) и $49,710,968^{**}$ (для гентамицина), что указывает на фазу реконвалесценции.

Уменьшение количества общего белка до лечения по сравнению с физиологическими показателями ($6,23 \pm 1,598$ г/л) свидетельствует о снижении иммунологической реактивности организма из-за подавления синтеза белков и нуклеиновых кислот в органах и тканях и потери белка из-за развития гастроэнтерита. Мирамистин способствует повышению содержания общего белка до $7,21 \pm 2,151^{***}$ г/л (к 15 дню) и $7,4 \pm 1,117^{***}$ г/л (к 30 дню). Гентамицин оказывает аналогичное действие, но и к 30 дню опыта количество общего белка не достигает нормативных показателей и составляет $6,6 \pm 1,136$ г/л.

Содержание альбуминов в крови поросят как опытной, так и контрольной групп изменялось незначительно, в пределах нормы.

Мирамистин нормализует протеинограмму. Под действием препарата происходит увеличение количества α -глобулинов с $13,58 \pm 1,04$ до $13,9 \pm 2,49$; β -глобулинов с $14,57 \pm 11,82$ до $15,08 \pm 3,12$ и γ -глобулиновых фракций с $27,36 \pm 3,52$ до $28,3 \pm 1,93$ к 15 дню опыта. К 30 дню эксперимента количество β -глобулинов и γ -глобулинов достигает физиологических показателей - $14,8 \pm 2,57$ и $26,4 \pm 3,04^{**}$, соответственно. При использовании гентамицина отмечен аналогичный характер изменений.

Мирамистин способствует повышению бактерицидной (с $25,6 \pm 5,3$ до $51,9 \pm 3,18$ на 15 день и $63,7 \pm 4,28$ на 30 день опыта), комплементарной (с $21,12 \pm 1,551$ до $33,7 \pm 0,942$ и $49,5 \pm 1,222^{***}$, соответственно), лизоцимной (с $8,41 \pm 0,518$ до $10,7 \pm 0,814$ и $14,6 \pm 0,622$, соответственно) активности сывороток крови. При применении гентамицина результаты несколько ниже. Бактерицидная активность повышается с $25,6 \pm 5,3$ до $38,1 \pm 4,21$ на 15 день и $40,1 \pm 3,69$ на 30 день опыта, комплементарная - с $21,12 \pm 1,551$ до $26,5 \pm 1,69^{***}$ и $27,1 \pm 0,99$, соответственно, лизоцимная - с **$8,41 \pm 0,518$** до $9,2 \pm 1,4$ и $10,1 \pm 0,922$, соответственно.

Нами установлено, что исследуемый препарат повышает клеточный иммунитет за счет увеличения к 15 дню эксперимента фагоцитарной активности лейкоцитов (с $69,0 \pm 0,47$ до $78,9 \pm 2,1$), фагоцитарного числа (с $3,7 \pm 0,25$ до $5,63 \pm 0,3$) и фагоцитарного индекса (с $3,76 \pm 0,92$ до $6,24 \pm 1,4$). Это можно объяснить тем, что мирамистин "оглушает" бактерии подготавливает их к фагоцитозу (то есть частично разрушенные клетки легче подвергаются фагоцитированию).

При использовании гентамицина отмечено снижение показателей ФАЛ (с $69,0 \pm 0,47$ до $67,4 \pm 3,14$ к 15 дню и $65,81 \pm 2,8$ к 30 дню эксперимента), незначительные изменения ФИ, ФЧ, что, по всей видимости, связано с токсическим действием антибиотика (угнетением функции печени и ретикулоэндотелиальной системы).

Под влиянием обоих препаратов у лечившихся поросят происходит изменение титров специфических антител, наиболее выраженное при применении мирамистина, что проявляется снижением титров сальмонеллезных антител с 1:127,5 до 1:16 к 30 дню эксперимента, тогда как при использовании гентамицина только до 1:80.

Таким образом, применение мирамистина в виде 0,01%-ного водного раствора с лечебной целью при сальмонеллезе поросят обеспечивает высокий терапевтический эффект - 83,3%.

2.13 Влияние мирамистина на свежесть и сохранность мяса поросят

Для изучения влияния мирамистина на свежесть и сохранность мяса провели убой 6 клинически здоровых поросят одинакового веса (12 кг) и возраста (поросята-отъемыши), которым индивидуально перорально

задавали 0,01%-ный водный раствор мирамистина в дозе 1,5 мл/кг (3 поросенка) и 3 мл/кг (3 поросенка) 2 раза в день в течение 7 суток, и 6 поросят, которые препарат не получали.

При ветеринарно-санитарной экспертизе туш поросят опытной и контрольной групп изменений патологического характера не выявлено.

После убоя туши поросят обеих групп были помещены в холодильник ($t^{\circ}\text{C}=0\dots+2$) для созревания. Через 2 суток по органолептическим признакам туши поросят опытной и контрольной групп были идентичными. При лабораторном исследовании, используя методы химического и микроскопического анализа, установлено, что данное мясо, от поросят опытной и контрольной групп, также принадлежит к категории свежего.

Влияние мирамистина на сохранность мяса изучено по комплексу органолептических и лабораторных показателей после хранения туш в морозильной камере при температуре минус 18°C в течение 3 месяцев; причем перед заморозкой они подверглись процессу созревания в течение 48 часов при температуре $0\dots+2^{\circ}\text{C}$. Установлено, что применение мирамистина поросьятам не сказывается отрицательно на сохранности туш (все полученные данные не выходили за рамки требования ГОСТов, что также подтверждает отсутствие отрицательного влияния мирамистина на сохранность мяса).

Нами проведена дегустационная оценка созревшего в течение 48 часов мяса от поросят каждой группы по 9 бальной шкале ВНИИМП. Общая оценка соответствовала мясу «вышесреднего» качества.

Таким образом, пероральное применение 0,01%-ного водного раствора мирамистина поросьятам не сказывается отрицательно на общей оценке при дегустации мяса, особенно на вкусе, аромате и внешнем виде.

3. ВЫВОДЫ

1. В этиологической структуре энтероинфекций у поросят в хозяйствах Воронежской области доминируют при колибактериозе *E. coli* с адгезивными антигенами K88 (40,3%), при сальмонеллезе - *S. typhisuis* (34,7%) и *S. cholerae suis* (33,7%). Серологические варианты эшерихий - 04, 020, 018, 02, 08, 01, 0101, 0142, 035, 047, 055 и виды сальмонелл - *S. typhimurium*, *S. paratyphi A*, *S. virchow*, *S. johannesburg*, *S. emmastad*, регистрируются значительно реже.

2. Мирамистин обладает широким спектром антимикробного действия в отношении возбудителей колибактериоза и сальмонеллеза, в том числе и антибиотикоустойчивых. МБсК препарата в отношении эшерихий составляет 3,13-50 мкг/мл, сальмонелл - 6,25-50 мкг/мл. МБцК - 12,5-50,0 мкг/мл для обоих видов микроорганизмов.

3. Культивирование возбудителей энтероинфекций на средах, содержащих суббактериостатические концентрации мирамистина, вызывает незначительное повышение устойчивости к препарату (КР для *E. coli* K88 и *Salmonella typhisuis* равен 4). Приобретенная резистентность

является нестойким признаком, поскольку адаптированные к мирамистину культуры эшерихий и сальмонелл способны реверсировать в исходные через 20 пассажей, на средах, не содержащих препарат.

4. При изучении *in vitro* сочетанного действия мирамистина и антибиотиков отмечен синергидный эффект относительно эшерихий в 2-6 раз, сальмонелл в 2-4 раза и стафилококков в 2-8 раз, в зависимости от группы антибиотика.

5. При пероральном применении мирамистина в течение недели здоровым морским свинкам и пороссятам у животных отмечается незначительное количественное изменение состава нормальной микрофлоры кишечника, полностью восстанавливаемое к 7-му дню после отмены препарата.

6. Применение мышам мирамистина в дозах 0,3 и 0,6 мл/гол за 3 часа до заражения, одновременно с ним, с последующим введением в течение 7 дней, обеспечивало высокий индекс их защиты при эшерихиозной (80-90%) и сальмонеллезной (60-80%) инфекциях. При назначении препарата через три часа после заражения индекс защиты снижался и составил 70-80% при колибактериозе и 50-70% при сальмонеллезе. Наименьшая терапевтическая эффективность мирамистина при колибактериозе (60-70%) и сальмонеллезе (40-50%) отмечена в группах мышей, получавших препарат через 6 часов после заражения.

7. Оптимальная профилактическая доза мирамистина при энтероинфекциях у поросят составляет 1,5 мл/кг живой массы при приеме внутрь 1 раз в день в течение 5 суток и предупреждает возникновение колибактериоза и сальмонеллеза в 91,6% и 88,5% случаев, соответственно.

8. Оптимальная лечебная доза мирамистина при энтероинфекциях у поросят составляет 3 мл/кг живой массы при приеме внутрь 2 раза в день в течение 7 суток и обеспечивает выздоровление при колибактериозе 85,7% животных, при сальмонеллезе - 83,3%, при среднесуточных приростах 146,0 г/гол, и 210,0 г/гол, соответственно.

9. Применение мирамистина для лечения больных поросят оказывает позитивное влияние на морфологические и иммунологические показатели крови (повышает количество эритроцитов, гемоглобина, ФАЛ, ФЧ, ФИ, КАск, БАск, ЛАск, снижает количество лейкоцитов, нормализует протеинограмму).

10. Мирамистин при пероральном применении не оказывает отрицательного влияния на сохранность, свежесть и вкусовые качества мяса поросят.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.

1. Для профилактики и лечения колибактериоза у поросят рекомендуется пероральное введение раствора мирамистина в дозах 1,5 мл/кг 1 раз в день в течение 5 суток и 3 мл/кг 2 раза в день в течение 7 суток, соответственно.

2. Для профилактики и лечения сальмонеллеза у поросят рекомендуется применение раствора мирамистина с кормом в дозах 1,5 мл/кг 1 раз в день в течение 5 суток и 3 мл/кг 2 раза в день в течение 7 суток, соответственно.

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Пояркова Т.В. Чувствительность возбудителей энтероинфекций у поросят к мирамистину / Т.В. Пояркова, Г.Н. Кузьмин, А.М. Скогорева // Материалы международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях". - Воронеж, 2002. - С. 500-501.

2. Пояркова Т.В. Применение мирамистина при энтероинфекциях у поросят / Т.В. Пояркова // Материалы межрегиональной научно-практической конференции "Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки XX века". Часть II. - Воронеж: ВГАУ, 2003.-С. 154-155.

3. Treatment efficacy of antiseptic myramistinum in piglets suffering from intestinal infections / Ghenadiy M. Kouzmin, Anna M. Skoghoreva, Vitaliy V. Svistov, Tatyana V. Poyarcova // Second international conference "Bacterial, viral and parasitic infections in human and veterinary medicine". - Republic of Bulgaria, Sofia: Medical universiti - Sofia, 2003. - S. 31.

4. К вопросу использования мирамистина в сочетании с антибиотиками / Г.Н. Кузьмин, А.М. Скогорева, Т.В. Пояркова, В.В. Свистов // Материалы научно-практической конференции профессорско-преподавательского и аспирантского состава ФТЖТ и ФВМ "Актуальные вопросы технологии животноводства, товароведения и ветеринарной медицины". Вып. 2. - Воронеж: ВГАУ, 2004. С. 11-13.

5. Кузьмин Г.Н. Антимикробная активность мирамистина и его терапевтическая эффективность при экспериментальных энтероинфекциях у лабораторных животных / Г.Н. Кузьмин, А.М. Скогорева, Т.В. Пояркова // Диагностика, лечение и профилактика болезней животных: Сб. науч. трудов факультета ветеринарной медицины. - Воронеж: ВГАУ, 2004. - Т. 3. - С. 25-37.

6. ИЗОБРЕТЕНИЯ.

1. Патент №2239425 Российская Федерация. Способ лечения колибактериоза и сальмонеллеза у поросят / Кузьмин Г. Н., Пояркова Т. В., Скогорева А. М., Свистов В. В.; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный аграрный университет им. К.Д. Глинки. - №2003108517; заявл. 31.03.03; опубл. 10.11.04.

Бумага кн.-журн. П.Л. 1,0. Гарнитура Таймс.
Тираж 100 экз. Заказ №455.

Типография Воронежского государственного аграрного университета
им. К.Д. Глинки
394087 г. Воронеж, ул. Мичурина, 1

22 MAR 2005

1683