

На правах рукописи

НАУМОВА Ирина Федоровна

**ОТЕЧНАЯ БОЛЕЗНЬ СВИНЕЙ
И НОВЫЕ ПОДХОДЫ
В ЕЕ ПРОФИЛАКТИКЕ**

Специальность 16.00.03 – ветеринарная микробиология,
вирусология, эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



Курск - 2004

Работа выполнена в лаборатории по изучению проблемных болезней животных Курского Федерального государственного научно-исследовательского института агропромышленного производства; на кафедре эпизоотологии и паразитологии Курской государственной сельскохозяйственной академии имени И.И. Иванова и в ГУ «Курская областная ветеринарная лаборатория».

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук,
Евглевский Алексей Алексеевич

Официальные оппоненты: заслуженный деятель науки РФ,
доктор ветеринарных наук,
профессор
Черванев Василий Александрович

заслуженный ветеринарный врач РФ,
кандидат ветеринарных наук
Писарев Анатолий Иванович

Ведущая организация: Всероссийский
научно-исследовательский
институт защиты животных
г. Владимир

Защита состоится «20» января 2005 года в 11⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.040.03 в Курской государственной сельскохозяйственной академии имени профессора И.И. Иванова по адресу: 305029, г. Курск, ул. К. Маркса, 70. КГСХА.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Курской государственной сельскохозяйственной академии имени И.И. Иванова.

Автореферат разослан «20» декабря 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доцент



Г.Ф. Рыжкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Уровень рентабельности свиноводства прежде всего связан с повышением сохранности молодняка. По ряду причин в настоящее время происходит снижение показателей сохранности и здоровья животных.

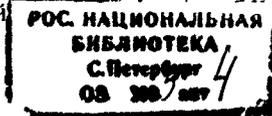
Наиболее острой проблемой в хозяйствах различных форм собственности являются желудочно-кишечные заболевания свиней (В.В. Гусев с соавт., 2004; С.И. Прудников, Т.М. Прудникова, 1997; В.Ф. Романенко, 1984; А.К. Сытдыков, И.Д. Бурлуцкий, 1977; В.И. Терехов, 2002; В.П. Урбан с соавт., 1984; А.Г. Шахов, 1999). На их долю приходится 60-70% от общего числа заболеваний поросят (В.Ф. Романенко, 1984)

Большинство исследователей считают, что появление и распространение этих болезней является следствием несоответствия потребностей организма животных условиям содержания, кормления и ухода, которые расцениваются как стрессовые (С.И. Джупина, 2002; Л.И. Ефанова, 1991; С.И. Прудников с соавт., 2002; А.Г. Шахов, 2002;).

В научной литературе такие болезни определяют как факторные. Борьба с факторными болезнями существенно отличается от классических инфекций, которые в большинстве случаев, удается профилактировать с помощью вакцин. В отношении факторных болезней этот подход носит чаще вспомогательный характер (С.И. Джупина, 2002). Это связано с тем, что возбудители факторных болезней постоянно и закономерно переживают в организме здоровых животных и проявляют свою потенциальную патогенную активность при выраженном изменении условий жизнедеятельности облигатного хозяина. В этой связи основной принцип профилактики факторных инфекционных болезней заключается в создании благоприятных для животных условий обитания. В пользу этого принципа свидетельствует высокая профилактическая эффективность содержания животных по методу «все пусто - все занято».

Придавая основное значение в борьбе с факторными инфекционными болезнями созданию приемлемых для животных условий обитания, кормления, тем не менее, в прогнозируемые критические периоды проблематично обойтись без лекарственных препаратов, обладающих антимикробным действием или повышающих неспецифическую резистентность организма.

Высокий уровень желудочно-кишечных заболеваний свиней в хозяйствах различных форм собственности, недостаточная эффективность технологических и ветеринарно-санитарных мероприятий по сохранению и укреплению здоровья животных, вспомогательная роль применения средств специфической профилактики обусловили выбор темы и направление наших исследований.



Цель работы. Экспериментально обосновать и апробировать в производстве новые подходы профилактики отечной болезни свиней.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- изучить эпизоотическое состояние и клиническое проявление отечной болезни свиней в Курской области;
- изучить биологические свойства выделенных культур *E.coli* и определить их чувствительность к применяемым средствам химио- и антибиотикотерапии.
- теоретически обосновать и разработать новую технологию получения тканевого иммуностимулирующего препарата и изучить его превентивную эффективность при эшерихиозной инфекции.
- теоретически обосновать и сконструировать комплексный иммуностимулирующий препарат с широким спектром действия и изучить его превентивную эффективность при эшерихиозной инфекции.

Научная новизна. Впервые научно обоснован и разработан принципиально новый способ профилактики ОБС, включающий применение формолянтарного гидролизата селезенки за 2-7 дней до и в первые 1-2 дня после отъема поросят от матки. Приоритет результатов научных исследований подтвержден патентом РФ № 2237485.

Практическая значимость работы. Полученные данные обосновывают целесообразность применения формолянтарного гидролизата селезенки для профилактики ОБС, высокая эффективность которого подтверждена в производственных условиях.

Основные положения, выносимые на защиту.

- характеристика эпизоотического состояния и биологические свойства эшерихий, вызывающих отечную болезнь свиней;
- способ получения иммуностимулирующего препарата на основе янтарной кислоты, ткани селезенки и формалина;
- результаты научных исследований по применению нового препарата – формолянтарного гидролизата селезенки при ОБС.

Апробация и публикация научных результатов. Основное содержание диссертации доложено и обсуждено на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава Курской ГСХА (2003; 2004 гг.); на ученом совете по итогам научно-исследовательской работы Курского НИИ агропромышленного производства (2003; 2004 гг.); на расширенном заседании ученого совета Курского НИИ АПП по заслушиванию материалов диссертационной работы (2004 г). По материалам диссертации опубликовано 6 научных статей.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 126 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 19 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических пред-

ложений и приложения. Список использованной литературы включает 204 наименований, в том числе 41 иностранных авторов.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследования

Исследования проводились с 1999 – по 2004 год в Курской областной ветеринарной лаборатории, в Курском научно-исследовательском институте агропромышленного производства, на кафедре эпизоотологии и паразитологии Курской ГСХА, а также в свиноводческих хозяйствах Курской области. В работе использовали эпизоотологический, клинический, патологоанатомический, бактериологический, серологический, биологический, биохимический, гематологический и иммунологический методы исследований.

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

Патологоанатомические данные изучали при вскрытии 157 трупов поросят павших от отечной болезни по общепринятой методике. Лабораторные исследования проводили согласно методическим указаниям по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных, утвержденных 27.07.2000 г. №13-7-2/2117.

Культуральные свойства штаммов кишечной палочки изучали по результатам роста на МПБ, МПА, ПЖА (рН=7,2-7,4), агаре Эндо и кровяном агаре.

Ферментативные свойства определяли на жидких питательных средах Гисса с индикатором Андрадэ, на среде с мочевиной, в реакции с метилротом и Фогес-Проскауэра.

Образование сероводорода изучали на среде с сернокислым железом, индола – на МПБ с индикаторной бумагой, пропитанной 12% раствором щавелевой кислоты, а способность культур усваивать цитратные и аммонийные соли на среде Симонса.

Для изучения серологических свойств кишечной палочки использовали агглютинирующие сыворотки K₈₈, K₉₉, 987P, F₄₁ и A₂₀, предназначенные для выявления в реакции агглютинации (РА) на стекле поверхностных адгезивных антигенов у энтеропатогенных эшерихий и агглютинирующие О-коли сыворотки Армавирской биофабрики, предназначенные для определения серогрупповой принадлежности. Реакцию агглютинации ставили согласно наставлению по их применению.

Патогенность культуры гемолитической кишечной палочки устанавливали на белых мышах живой массой 14-16 г путем внутрибрюшинного введения смыва суточной агаровой культуры в дозе

500 млн. м. т. Культуры считались патогенными в случае гибели двух или более мышей в течение 3 суток после заражения

Бактерионосительство у свиноматок и поросят различного возраста изучали путем посева фекал на среду Эндо в разведении 1:20, взятых стерильной стеклянной трубкой из прямой кишки.

Определение гемоглобина проводили колориметрическим методом, подсчет эритроцитов и лейкоцитов проводили с помощью камеры Горяева обычным способом (П.Г. Лебедев, А.Т. Усович, 1969), а также кондуктометрическим методом на гемоцитометре ГЦМК – 3. Определение общего белка в сыворотке крови проводили рефрактометрическим методом, определение белковых фракций в сыворотке крови нефелометрическим методом, определение общего кальция в сыворотке крови комплексометрическим методом по Уилкинсону, определение неорганического фосфора в сыворотке крови по С.А. Ивановскому (В.Я. Антонов, П.Н. Блинов, 1971), определение щелочного резерва в плазме крови диффузионным методом (Методические указания, 1981).

Лизоцимную активность крови определяли нефелометрическим методом по В.Г. Дорофейчук (1968) и выражали в % по сравнению со светопусканием стандартной микробной взвеси. Определение бактерицидной активности сыворотки крови устанавливали нефелометрическим методом по О.В. Смирновой, Т.А. Кузьминой (1966).

Фагоцитарную активность лейкоцитов вычисляли по Е.А. Кост и М.И. Стенко (1968) с определением фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ).

Математическую обработку полученных данных и оценку значения критерия достоверности (Р) проводили по методике В.С. Асатиани (1985). Вероятность различий считалась существенной при $P < 0,05-0,001$. Экономическую эффективность проведенных мероприятий рассчитывали согласно методике расчета экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утвержденной ГУВ МСХ СССР от 4.05.1982 г. и Методических рекомендаций по определению экономической эффективности ветеринарных мероприятий (1987).

Результаты собственных исследований

Динамика причины и клиническое проявление отечной болезни свиней в Курской области

По данным ветеринарной отчетности в период с 1999-2003 г. в Курской области, в инфекционной патологии свиней желудочно-кишечные заболевания (ЖКЗ) составили в среднем 85,7%, при этом на отечную болезнь свиней приходится – 33,2 %. В свою очередь, среди ЖКЗ отечная болезнь свиней в эти годы составила в среднем 38,6 % (таблица 1).

Таблица 1 - Динамика проявления отечной болезни свиней среди всех заболеваний свиней инфекционной патологии

Показатели	Год исследования				
	1999	2000	2001	2002	2003
1. Количество случаев ЖКЗ свиней к общему числу инфекционной заболеваемости свиней (%), из них:					
отечная болезнь	92,5	89	83	90	74
2. Количество случаев отечной болезни к общему числу инфекционных болезней свиней (%)	27	34	38	55	39
	25	30	32	50	29

В настоящее время отечная болезнь свиней регистрируется повсеместно. Заболевание встречается в течение года. Но наибольшее количество случаев приходится на апрель-июль.

Наши наблюдения показали, что в крупных свиноводческих хозяйствах, таких как свинокомплекс «Магнитный» (54 тыс. голов свиней) к отечной болезни восприимчивы животные различного возраста, но наиболее подвержены заболеванию поросята-отъемыши в возрасте 45-60 дней. Заболевание регистрируется постоянно по мере проведения отъема и заполнения секторов на участке доращивания. Поросята заболевали одновременно в одной или нескольких клетках, причем необязательно расположенных рядом. Заболевание началось внезапно. Как правило, в случае заболевания, животные гибли в течение нескольких часов. По нашим наблюдениям заболевали поросята хорошей упитанности.

Клинически ОБС проявлялось схожими симптомами, в частности, наблюдалось покраснение и отек век, конъюнктивы, повышение возбудимости, шаткая походка.

Случаи заболевания ОБС в 5-7 месячном возрасте были отмечены в частном секторе Фатежского, Кореневского, Касторенского и других районах. Во всех случаях проявлению вспышек отечной болезни свиней явилась резкая смена рациона кормления. Следует отметить, что владельцы животных не всегда извещали ветеринарную службу о быстрой гибели поросят.

Полученные оперативные данные свидетельствовали, что в подавляющем большинстве случаев предрасполагающими факторами в возникновении болезни у поросят, принадлежащих хозяйствам ЗАО «Содружество» Золотухинского района, кооперативу «Амосовский» Медвенского района и другим хозяйствам, являлось изменение рациона кормления и условий содержания поросят отъемного возраста, в частности соединение в одном станке поросят от разных свиноматок.

Изучение биологических свойств выделенных культур при ОБС

В процессе проведения бактериологических исследований выделено 157 культур гемолитической кишечной палочки.

При изучении ростовых свойств выросших колоний установлено: на МПБ – культуры *E.coli* образовывали хорошо выраженное помутнение с выпадением серо-белого осадка легко разбивающегося при встряхивании; на МПА – культуры *E.coli* росли в виде круглых серо-белого цвета влажных колоний в диаметре 1-2 мм с приподнятым центром.

Отличительные особенности культуры эшерихии проявляли при росте на среде Эндо. Основная часть культур 111 (71%) на среде Эндо образовывала малинового цвета колонии. Колонии розового цвета образовывали 17 культур (11%). Темно-розовый цвет имели 29 (18%) культур.

На среде с сорбитолом все культуры образовывали розовато-малинового цвета колонии.

Выросшие на плотных средах колонии были влажные, пастообразные, легко снимались бактериологической петлей. При микроскопическом исследовании мазков, окрашенных по Граму, все изученные культуры представляли грамтрицательные палочки средней величины, расположенные одиночно и попарно. Некоторые палочки более интенсивно окрашивались по концам.

Изучение биохимических свойств культур *E.coli* провели на жидких средах Гисса с индикатором Андрадэ. В биохимическом отношении все 157 культур разлагали с образованием кислоты и газа глюкозу, маннит; 141 культура – лактозу; 25 культур – мальтозу и сахарозу. Все культуры давали положительную реакцию с метилротом и отрицательную Фогес-Проскауэра; образовывали индол и не образовывали сероводород, не разжижали желатин, не ферментировали инозит.

На среде Симмонса культуры *E.coli* не росли и цвета её не меняли. Это свидетельствовало о цитратно-негативных свойствах культур *E.coli*.

Таким образом, все исследованные культуры обладали свойствами, присущими группе бактерий *E.coli*.

При изучении гемолитических свойств установлено, что 157 культур при росте на кровяном агаре, образовывали круглые колонии окруженные светлой зоной β-гемолиза.

При проведении серологических исследований установлено, что у свиней циркулируют штаммы серотипов O₈, O₂₆, O₃₃, O₁₄₁, O₁₄₉. Также у эшерихий, поражающих поросят обнаружены антигены K₈₈, K₉₉, F₄₁ и 987P.

При определении патогенности установлено, что 92 культуры (59%) вызывали гибель мышей в течение суток; 65 культур (41%) на 2-3-и сутки. Анализ чувствительности к антибиотикам проведен у 27 культур *E.coli*, выделенных из 3 хозяйств с различной интенсивностью применения антибиотиков.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что все изучаемые в данном тесте культуры *E.coli* демонстрировали повышенную устойчивость практически ко всем антибиотикам, в том числе и антибиотикам последнего поколения. Тем не менее, если в ЗАО

«Содружество» чувствительность к антибиотикам показана практически у всех 5 изучаемых культур, то в СХПК «Амосовский» прослеживается выраженная тенденция к ее снижению. Еще более выражена лекарственная резистентность культур *E.coli* наблюдается в свином комплексе «Магнитный».

Полученные данные свидетельствуют о высокой резистентности к антибиотикам культур *E.coli*, выделенных при ОБС, что обуславливает неэффективность их применения при данном заболевании. Тяжелое течение ОБС, вызываемое антибиотико-резистентными формами кишечной палочки и связанные с этим трудности лечения больных требуют поиска эффективных антиинфекционных препаратов с широким спектром действия. При этом важное значение, по нашему мнению, должно придаваться обеспечению повышения резистентности макроорганизмов и снижения вирулентности микроорганизмов.

Теоретическое обоснование подходов в получении и экспериментальном изучении новых иммунотропных препаратов при инфекции *E.coli*

Одним из известных и доступных источников получения биологически активных веществ иммунотропного действия могут служить органы иммунной системы животных. В ветеринарии достаточно хорошо известны препараты, полученные из тканей селезенки свиней и крупного рогатого скота – спленофероны.

В основу получения нового варианта иммунотропного препарата нами положен известный метод П.Ф. Филатова

Оптимизируя данный метод мы провели гидролиз гомогената с использованием янтарной кислоты. Сама по себе янтарная кислота – универсальный биогенный стимулятор обмена веществ живой клетки, естественный эндогенный субстрат окислительно-восстановительных процессов (цикл Кребса) в живых организмах. Избирательность действия экзогенной янтарной кислоты заключается в том, что она «плохо» проникает в нормальные ткани, значительно легче в клетки и ткани, находящиеся в состоянии возбуждения или патологически измененные.

Таким образом, янтарная кислота наиболее устраивала нас в вопросе ее использования для проведения кислотного гидролиза. В серии экспериментальных поисковых опытов установлено, что воздействие раствором янтарной кислоты разной концентрации на ткань селезенки, позволяет не только быстро провести гидролиз и выделение молекулярной взвеси биологически активных веществ, но и обеспечить полную очистку гидролизата от неэкстрагированной биомассы, выпадающей в осадок.

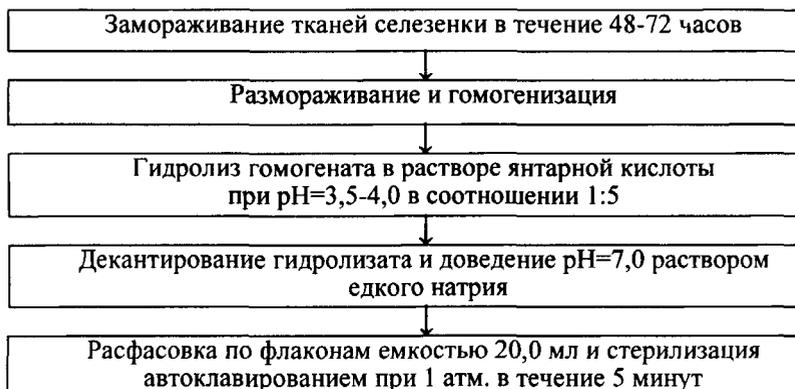
Окончание процесса гидролиза контролировалось визуально и не представляло сложностей, так как наблюдалось четко выраженное расслоение содержимого биобутылей на 2 части: верхнюю, представляющую собой светлую, лишенную примесей биомассы молекуляр-

ную взвесь биологически активных веществ и нижнюю в виде сформировавшегося осадка из не экстрагированной биомассы.

Решение проблемы инактивации повышенной кислотности было найдено за счет добавления раствора едкого натрия. Янтарная кислота, вступая в реакцию с едким натрием, переходила в соль янтарной кислоты - сукцинат натрия. Выпадения осадка при этом не наблюдалось. Щадящий режим автоклавирования 100°C в течение 5 минут, позволял провести стерилизацию препарата, расфасованного во флаконы емкостью 20 мл, не вызывая термоденатурацию белков. Как показали бактериологические исследования, высевы содержимого флаконов на МПА, МПБ и МПБ под вазелиновое масло, не вызывали пророста микрофлоры, что свидетельствовало о стерильности препарата. На данном этапе работы, получение препарата по вышеизложенной технологии в виде схемы представлено на рисунке 1.

Рисунок 1

Схема получения янтарного спленолизата



В целом, получение препарата по такой технологии, отличается простотой, экономичностью и доступностью.

Превентивная эффективность янтарного спленолизата при моделировании эшерихиозного сепсиса у белых мышей

Решение поставленной задачи первоначально провели при моделировании эшерихиозной инфекции у белых мышей. Мышей массой 18-20 г. иммунизировали одно- и двукратно в дозе 0,5 мл подкожно. На 7-й и 14-й день после иммунизации, животных заразили, предварительно оттитрованной культурой, в дозе $3LD_{50}$ (400 млн.м.т.). Превентивную активность препарата оценили в тесте выживаемости подопытных животных (таблица 2).

**Таблица 2 - Превентивная активность янтарного спленолизата
в опытах на белых мышях**

Группы и количество животных	Кратность иммунизации	Выживаемость мышей в дни заражения			
		7 день		14 день	
		Выжи- ло/пало	% выжи- ваемости	Выжи- ло/пало	% выжи- ваемости
Опытная (n=7)	однократная	3/4	43	-	-
Опытная (n=8)	однократная	-	-	3/5	37,5
Опытная (n=7)	двукратная	5/2	71,4	-	-
Опытная (n=7)	двукратная	-	-	5/2	71,4
Контроль (n=3)	-	3/3	-	-	-

Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют о выраженном антиинфекционном действии янтарного спленолизата.

Исходя из того, что наблюдаемый защитный эффект не был связан со специфической иммунизацией, можно сделать заключение о том, что его проявление основано неспецифическими факторами резистентности, в этой связи, механизм антиинфекционного действия препарата нуждается в специальном изучении.

Изучение влияния янтарного спленолизата на гематологические, иммунологические и биохимические показатели поросят пред- и послеотъемного возраста и устойчивость к отечной болезни

Для проведения опыта были сформированы 4 группы поросят. Первые две группы были сформированы из числа клинически здоровых поросят 45-50 дневного возраста. Еще в две группы отобрали поросят этого же возраста, но из числа отстающих в физиологическом развитии.

Опытных животных подвергли однократной иммунизации. Испытуемый препарат вводили внутримышечно в дозе 2 мл. Влияние иммунизации на иммунологические, биохимические и ростовые показатели нами представлено в таблицах 3, 4, 5, 6.

Таким образом, иммунизация поросят янтарным спленолизатом способствовала улучшению гематологических показателей и улучшению белкового обмена общего белка. Повышение уровня гамма глобулиновой фракции свидетельствовало о повышении резистентности организма.

Повышение и нормализация содержания кальция, фосфора и резервной щелочности крови не могло не указывать на нормализацию минерального обмена веществ в целом, что имеет важное значение в вопросе повышения общей резистентности организма.

Таблица 3 - Влияние янтарного спленолизата на уровень белка и белковых фракций сыворотки крови подопытных поросят

Показатели	Периоды исследований (дни)			
	В начале опыта	3 дня	7 дней	14 дней
1	2	3	4	5
Здоровые животные (опытные (n=30) / контрольные (n=30))				
Общий белок, г/л	60,8±1,4 60,8±1,4	62,4±1,8 61,2±1,3	67,3±2,0** 61,7±1,3	65,4±1,2** 61,5±1,3
Альбумины, г/л	22,7±1,8 22,7±1,7	23,1±1,7 22,8±1,5	23,5±1,4 22,6±1,2	24,1±0,8 23,2±1,6
α-глобулины, г/л	11,7±1,4 11,6±1,8	11,9±1,5 11,7±1,6	12,1±1,4 11,7±0,8	12,4±0,8 11,7±1,2
β-глобулины, г/л	11,2±1,1 11,7±1,0	11,5±1,2 11,6±1,1	11,8±1,4 11,7±1,2	12,6±0,7 12,0±1,2
γ-глобулины, г/л	13,8±1,2 13,8±1,0	17,4±1,2** 14,0±0,6	20,3±0,8* 14,7±1,2	15,8±1,4 15,3±0,7
Отстающие в развитии (опытные (n=12) / контрольные (n=12))				
Общий белок, г/л	52,1±1,8 52,3±0,7	53,0±1,2 52,4±1,0	58,6±0,8* 52,0±0,6	59,3±1,2* 51,8±0,9
Альбумины, г/л	17,8±1,3 17,2±1,6	18,1±0,8 17,4±1,3	19,8±0,7 17,6±0,8	29,5±1,3* 17,8±1,2
α-глобулины, г/л	9,8±1,6 9,8±1,4	10,0±1,3 9,8±1,8	11,2±0,7 10,3±1,6	11,3±0,6 10,4±1,2
β-глобулины, г/л	9,6±1,2 9,5±1,1	9,8±1,1 9,6±1,0	10,1±0,7 9,7±1,3	10,5±1,3 10,2±0,8
γ-глобулины, г/л	7,2±0,3 7,3±0,4	10,2±0,6** 7,5±0,3	15,8±0,4* 7,6±0,8	15,5±0,7* 7,6±1,3

Примечание. разница в показателях достоверно выражена *(P < 0,001), ** (P < 0,05-0,01) по отношению к контролю.

Таблица 4 - Влияние иммунизации янтарным спленолизатом на биохимические показатели крови поросят

Показатели	Периоды исследований (дни)			
	В начале опыта	3	7	14
1	2	3	4	5
Здоровые животные (опытные (n=30) / контрольные (n=30))				
Общий кальций, ммоль/л	2,32±0,12 2,38±0,10	2,48±0,16 2,37±0,11	2,94±0,17** 2,32±0,21	3,02±0,11** 2,41±0,19
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,75±0,17 1,84±0,11	1,86±0,26 1,86±0,21	2,04±0,15 1,81±0,12	2,09±0,16 1,83±0,15
Резервная щелочность, об % CO ₂	29,4±2,3 30,6±2,1	37,2±3,4 29,6±2,8	40,6±3,2** 29,4±2,1	43,7±3,1** 30,6±2,2
Отстающие в развитии (опытные (n=12) / контрольные (n=12))				
Общий кальций, ммоль/л	1,56±0,11 1,54±0,09	1,71±0,15 1,54±0,12	2,17±0,16** 1,50±0,14	2,28±0,10* 1,57±0,08
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,29±0,16 1,31±0,10	1,41±0,23 1,34±0,17	1,61±0,12 1,32±0,10	1,69±0,13 1,36±0,12
Резервная щелочность, об % CO ₂	14,3±2,1 14,5±1,9	22,9±3,2 14,8±2,6	26,3±3,1** 14,7±1,8	29,1±2,8* 14,9±2,1

Примечание: разница в показателях достоверно выражена *(P < 0,001), ** (P < 0,05-0,01) по отношению к контролю

Таблица 5 - Динамика роста поросят при однократной иммунизации янтарным спленолизатом

Группы животных	Показатели живой массы		Средне-суточный прирост (г)	Абсолютный прирост за месяц (кг)
	в начале опыта	через 30 дней		
Клинически здоровые				
1.Опытная (n=30)	9,2±0,5	18,5±0,3	0,307	9,2±0,3
2.Контрольная (n=30)	9,3±0,2	16,7±0,5	0,250	7,5±0,4
Отстающие в развитии				
1.Опытная (n=12)	6,8±0,4	11,8±0,6	0,100	5,0±0,2
2.Контрольная (n=12)	7,0±0,3	9,4±0,5	0,80	2,4±0,2

Клинические наблюдения свидетельствовали о том, что животные опытных групп лучше росли и были более спокойными, нежели их сверстники из контрольных групп (таблица 6).

Таблица 6 - Иммунологические показатели поросят при иммунизации янтарным спленолизатом

Показатели	Периоды исследований (дни)			
	В начале опыта	3	7	14
1	2	3	4	5
Здоровые животные (опытные (n=30) / контрольные (n=30))				
Фагоцитарная активность нейтрофилов,%	<u>73,2 ± 0,31</u> 74,1 ± 0,26	<u>84,1 ± 0,47*</u> 73,8 ± 0,35	<u>93,5 ± 0,27*</u> 74,7 ± 0,22	<u>83,8 ± 0,34*</u> 75,1 ± 0,18
Фагоцитарное число	<u>7,82 ± 0,24</u> 7,93 ± 0,15	<u>8,77 ± 0,45**</u> 7,54 ± 0,28	<u>10,74 ± 0,32*</u> 7,81 ± 0,52	<u>9,48 ± 0,54*</u> 7,83 ± 0,37
Бактерицидная активность, %	<u>89,8 ± 1,7</u> 70,2 ± 1,3	<u>75,6 ± 2,9</u> 69,8 ± 1,1	<u>82,6 ± 2,3*</u> 69,7 ± 2,6	<u>78,4 ± 2,7**</u> 70,4 ± 2,3
Лизоцимная активность, %	<u>7,13 ± 1,24</u> 7,19 ± 1,22	<u>8,65 ± 1,32</u> 7,15 ± 1,31	<u>10,7 ± 0,35**</u> 7,49 ± 1,33	<u>8,64 ± 0,35</u> 7,54 ± 1,17
Отстающие в развитии (гипотрофики) (опытные (n=12) / контрольные (n=12))				
Фагоцитарная активность нейтрофилов,%	<u>61,4 ± 0,52</u> 62,3 ± 0,28	<u>65,2 ± 0,73**</u> 61,8 ± 0,34	<u>69,4 ± 0,53*</u> 61,9 ± 0,67	<u>67,6 ± 0,82*</u> 62,3 ± 0,38
Фагоцитарное число	<u>5,78 ± 0,33</u> 5,80 ± 0,25	<u>6,21 ± 0,52</u> 5,68 ± 0,24	<u>7,02 ± 0,16**</u> 5,73 ± 0,24	<u>6,78 ± 0,35</u> 5,68 ± 0,42
Бактерицидная активность, %	<u>54,3 ± 1,6</u> 58,1 ± 1,3	<u>57,8 ± 2,2</u> 57,6 ± 2,2	<u>62,3 ± 1,9</u> 58,3 ± 1,7	<u>61,8 ± 2,1</u> 58,1 ± 1,6
Лизоцимная активность, %	<u>5,89 ± 1,34</u> 5,95 ± 1,14	<u>6,53 ± 1,42</u> 5,84 ± 1,32	<u>7,08 ± 1,23</u> 6,03 ± 1,26	<u>6,95 ± 1,18</u> 6,22 ± 1,23

Примечание: разница в показателях сравниваемых групп статистически достоверна по отношению к контролю, * (P<0,001); ** (P<0,05-0,01)

Исходя из анализа иммунологических показателей можно предположить, что наиболее выраженный антиинфекционный эффект может быть до 7 дней, после чего показатели общей неспецифической резистентности организма возвращаются к исходному состоянию. Как показали дальнейшие наблюдения, высказанное предположение подтвердилось регистрацией клинических случаев проявления диареи и нескольких случаев возникновения отечной болезни среди подопытных поросят (таблица 7).

Таблица 7 - Влияние иммунизации янтарным спленолизатом на заболеваемость поросят в послеотъемный период

Показатель	Развитые поросята из групп		Гипотрофики из групп	
	Опытная (n=25)	Контрольная (n=25)	Опытная (n=25)	Контрольная (n=25)
Заболело диареей, голов, %	5 20%	7 28%	8 32%	15 60%
Заболело ОБС, голов, %	3 12%	5 20%	-	-
Пало в период наблюдения, голов, %	4 16%	8 32%	6 24%	10 40%

Как показали наши наблюдения иммунизация янтарным спленолизатом, позволила почти в 1,5 раза уменьшить заболеваемость поросят и падеж на 16% в сравнении с контролем. Среди гипотрофиков заболевания ОБС не наблюдали.

Изучение превентивных свойств янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином на модели эшерихиозного сепсиса на белых мышах

В опытах использовали белых мышей массой 16-18 г. Иммунизацию провели двукратно, подкожно, в дозе 0,5 мл. Заражение мышей провели оттитрованной культурой *E.coli* в дозе 3LD₅₀ в разные сроки. Одновременное заражение мышей контрольных групп на 14 и 21 день в наибольшей степени исключало вероятность ошибки по оценке эффективности иммунизации. Кроме того, это позволяло нам более оперативно получать материал для бактериологических исследований, так как период проведения был единым для всех подопытных групп. Для наглядности последовательность заражения белых мышей и выживаемость их в отдаленные, после иммунизации, сроки, представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Протективная активность янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином при моделировании эшерихиозного сепсиса на белых мышах

Препарат	Заражение после иммунизации (часы, дни)	Отношение числа зараженных (числитель) к числу погибших (знаменатель)	Уровень защиты (%)
Янтарный спленолизат в сочетании с формалином			
1	6 часов	5/0	100,0
2	12 часов	5/0	100,0
3	24 часа	5/2	60,0
4	48 часов	5/3	40,0
5	7 день	7/2	71,4
6	14 день	7/2	71,4
7	21 день	7/4	42,9
Контроль янтарный спленолизат			
1	14 день	7/2	71,4
2	21 день	7/4	42,9

Это указывало на то, что антибактериальное действие формалина в организме животных предположительно ограничивается периодом 12-20 часов.

В отдаленные дни после иммунизации (7-й и 14-й день) уровень защиты белых мышей от заражения составил более 70%. Заражение мышей на 21-й день после иммунизации выявило выраженную тенденцию к снижению уровня защиты до 42,9%. Следует отметить, что это было не случайно, так как в параллельной серии опытов по иммунизации белых мышей одним лишь янтарным спленолизатом, наблюдали аналогичный протективный эффект.

Таким образом, нами установлено, что наиболее выраженный протективный эффект, при заражении белых мышей смертельной дозой *E.coli*, обеспечивается в первые 12 часов после иммунизации. Последнее указывает, что в случае развития инфекционного процесса в септической форме в этот период следует проводить повторную иммунизацию. В отдаленный период времени после иммунизации (7 и 14 день) эффективная защита организма животных происходит за счет повышения уровня неспецифической резистентности, индуцированный биологически активными веществами янтарного спленолизата.

Изучение влияния янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином на носительство патогенных штаммов *E.coli* у свиней

Объектом исследования являлись супоросные свиноматки, подсосные свиноматки, поросята перед отъемом и после отъема, клини-

чески здоровые и с признаками диареи. Все животные находились в одном помещении, в рацион входили одни и те же корма. Нативным материалом для проведения бактериологических исследований являлись пробы фецес, отбираемые из прямой кишки.

Иммунизация янтарным спленолизатом в сочетании с 0,3% формалином позволила снизить количественное содержание патогенных штаммов *E.coli*, по сравнению с фоновыми показателями. Так, уровень носительства патогенных *E.coli* среди супоросных свиноматок уже на третьи сутки снизился в три раза; у подсосных в два раза. Наиболее значимые результаты получены среди поросят в группе, подлежащей отъему от свиноматок.

Таблица 9 - Влияние иммунизации янтарным спленолизатом в комбинации с 0,3% формалином на частоту изоляции патогенных культур *E.coli* из фецес свиней разных производственных групп, клинического и физиологического состояния

№ п/п	Группы животных и их статус	Частота изоляции патогенных <i>E.coli</i>							
		До иммунизации		После иммунизации через					
		кол-во	%	3 дня		7 дней		14 дней	
		кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
1	Супоросные свиноматки (n=8)	3	37,5	1	12,5	1	12,5	2	25
2	Подсосные свиноматки (n=8)	4	50	2	25	1	12,5	3	37,5
3	Поросята до отъема (n=12)	6	50	-	-	2	16,6	4	33,3
4	Поросята после отъема (здоровые) (n=10)	4	40	-	-	2	20	2	20
5	Поросята после отъема с признаками диареи (n=10)	8	80	4	40	4	40	4	40

Применение иммуногена привело к полной элиминации гемолитических штаммов эшерихий из их организма, о чем свидетельствовали отрицательные результаты бактериологических исследований фецес, проведенные на 3-и сутки.

Производственное испытание эффективности янтарного спленолизата в комбинации с формалином для профилактики отечной болезни свиней

Эффективность иммуногена нами была изучена в производственных условиях двух хозяйств ЗАО «Содружество» и кооператив «Амосовский» Испытание провели в весенне-летний период, так как

именно в теплое время года наиболее часто регистрируются энзоотические вспышки отежной болезни.

Опытные и контрольные группы поросят формировались в возрасте 45-60 дней. Такой возрастной разрыв диктовался слабым физиологическим развитием подсосных поросят и низкими весовыми показателями. Опытные группы поросят первый раз иммунизировали за 5-7 дней до отъема. Повторно иммунизацию проводили в первые дни отъема. Препарат применяли внутримышечно в дозе 2,0 мл. За животными опытных и контрольных групп вели ежедневное клиническое наблюдение в течение трех недель после отъема. При этом учитывали общее состояние, частоту и тяжесть желудочно-кишечных заболеваний и отежной болезни, падеж поросят.

Результаты изучения профилактической эффективности янтарного спленолизата в комбинации с 0,3 % формалином приведены в таблице 10.

Таблица 10 - Результаты производственного испытания янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином для профилактики отежной болезни свиней

Хозяйство	Группы и количество животных	Выявлено случаев заболевания в послеоъемный период				Общее количество павших	Сохранность
		диарей		отежной болезнью			
		Кол-во	%	Кол-во	%		
ЗАО «Содружество»	Опыт (n=120)	28	23,3	7	5,8	21	82,5
	Контроль (n=90)	57	63,3	22	24,4	36	60,0
Кооператив «Амосовский»	Опыт (n=108)	19	17,6	4	3,7	11	89,8
	Контроль (n=74)	35	47,3	18	24,3	22	70,3

Таким образом, результаты экспериментальных и производственных испытаний нами разработанного янтарного спленолизата в сочетании с 0,3 % формалином свидетельствуют о его высоких антиинфекционных свойствах. Что позволяет рекомендовать его для применения в ветеринарной практике при наиболее распространенных факторных бактериальных болезнях животных, в частности, при отежной болезни свиней.

ВЫВОДЫ

1. В инфекционной патологии свиней желудочно-кишечные болезни составляют 85,7%, в том числе отечная болезнь - 38,6%.

2. Эпизоотические вспышки ОБС обуславливались патогенными серологическими вариантами эшерихий O₈, O₂₆, O₃₃, O₁₄₁, O₁₄₉ и эшерихиями, содержащими адгезивные антигены K₈₈, K₉₉, F₄₁, P₉₈₇.

3. Выделенные при ОБС патогенные серологические варианты эшерихий характеризовались однородностью биологических свойств и в большинстве случаев проявляли устойчивость к широко применяемым в ветеринарной практике антибактериальным препаратам.

4. Стрессовые воздействия, обусловленные изменениями содержания и рациона кормления вызывают быстрое снижение уровня неспецифической резистентности, характеризующейся снижением бактерицидной и лизоцимной активности крови на 15-30%, концентрации общего белка и гамма-глобулинов на 10-30%, что способствовало активизации жизнедеятельности и патогенности E.coli.

5. Полученный по новому методу янтарный гидролизат при испытании на лабораторных животных обеспечивает 70% устойчивость белых мышей при заражении гемолитической культурой E.coli в дозе 3 LD₅₀.

6. Парентеральное введение янтарного спленолизата в общепринятых объемах поросатам повышает прирост массы тела на 20% и оказывает благоприятное воздействие на иммунологические и биохимические показатели.

7. Парентеральное применение янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином, в общепринятых для инактивированных вакцин дозах, в значительной степени снижает вирулентность и носительство патогенных штаммов кишечной палочки.

8. Применение при ОБС комплексного иммунотропного препарата, содержащего янтарный спленолизат и 0,3% формалин, приводит к быстрому подавлению патогенной активности энтеротоксигенных штаммов кишечной палочки и инактивации их токсинов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Для профилактики ОБС, в стрессовые периоды выращивания животных (отъем, перегруппировка, изменение рациона кормления и т.д.) рекомендуется применение нового тканевого иммуномодулирующего препарата, полученного путем кислотного гидролиза янтарной кислотой паренхимы селезенки в комбинации с 0,3% формалином в дозе 2 мл, двукратно, с интервалом 7 дней. В случае спонтанного возникновения ОБС рекомендуется 2-3 кратное применение препарата с интервалом 12 часов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Наумова И.Ф. Превентивная эффективность янтарного спленолизата при моделировании эшерихиозного сепсиса у белых мышей / С.Ю. Панькова, А.А. Евглевский // Мат. науч. - практ. конф. профессорско - преподавательского состава и аспирантов Курской ГСХА. – Курск, 2004. – С.33-34.

2. Наумова И.Ф. Изучение превентивных свойств янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином на модели эшерихиозного сепсиса на белых мышах / С.Ю. Панькова, А.А. Евглевский // Мат. науч. - практ. конф. профессорско - преподавательского состава и аспирантов Курской ГСХА. – Курск, 2004. – С.35-36.

3. Наумова И.Ф. Изучение влияния янтарного спленолизата в комбинации с 0,3% формалином на носительство патогенных штаммов *E.coli* у свиней / И.Ф. Наумова // Мат. науч. - практ. конф. профессорско-преподавательского состава и аспирантов Курской ГСХА. – Курск, 2004. – С.37-38.

4. Наумова И.Ф. Производственные испытания эффективности янтарного спленолизата в комбинации с формалином для профилактики отечной болезни свиней/ И.Ф. Наумова // Мат. науч. - практ. конф. профессорско - преподавательского состава и аспирантов Курской ГСХА. – Курск, 2004. – С.39.

5. Наумова И.Ф. Разработка формолянтарного спленолизата и его экспериментальное изучение при отечной болезни свиней / И.Ф. Наумова, А.А. Евглевский // Инф. листок Курского ЦНТИ. – Курск, 2004. - №39-057-04. –3 с.

6. Наумова И.Ф. Эффективность янтарного спленолизата в комбинации с формалином для профилактики отечной болезни свиней / И.Ф. Наумова, А.А. Евглевский // Инф. листок Курского ЦНТИ. – Курск, 2004. - №39-056-04. –3 с.

ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения препарата для получения препарата для повышения резистентности организма животных (Патент РФ № 2237485).

3

2006-4

2417

Р - - 100

4