

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ СПЕЦИФІЧНИХ ЗАСОБІВ В СИСТЕМІ КОНТРОЛЮ АСОЦІЙОВАНИХ БАКТЕРІОЗІВ КІНЦІВОК ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Л. Г. Улько, к.вет.н., доцент,

Т. І. Фотіна, д.вет.н., професор

Сумський національний аграрний університет

В статті розглянуті питання можливості застосування асоційованої вакцини із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* для профілактики асоційованих бактеріозів кінцівок великої рогатої худоби. У кролів щеплених асоційованою вакциною на 15-ту добу збільшується кількість лейкоцитів, Т- та В-лімфоцитів, підвищується бактерицидна та лізоцимна активність сироватки крові та фагоцитарна активність нейтрофілів. Встановлено, що застосування асоційованої вакцини у дозі 5 см³ забезпечує захист 95.% тварин впродовж 5-ти місяців, а у комплексі з неспецифічними засобами надійно профілактує асоційовані бактеріози кінцівок у великої рогатої худоби.

Ключові слова. Асоційована вакцина, кролі, корови, епізоотичні штами *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* асоційовані бактеріози.

Постановка проблеми у загальному вигляді. За останні роки за частотою випадків некробактеріоз займає одне із перших місць в структурі інфекційної патології. Захворювання є факторним і в господарствах частіше реєструється як змішана інфекція, яка проявляється на фоні зниженої природної резистентності організму. Нерідко захворювання ускладнюється асоціативною інфекцією [1-4].

Зв'язок з важливими науковими і практичними завданнями. Дослідження проведені за темою «Патологія кінцівок у продуктивних тварин (етіологія, патогенез, діагностика та вдосконалення засобів боротьби)». Номер державної реєстрації – 0109U008170.

Аналіз літературних даних, в яких започатковано розв'язання проблеми. Одним із основних методів профілактики та боротьби з інфекційними хворобами є вакцинація, серопротекція та серотерапія. Тому удосконалення існуючих та розроблення нових засобів специфічної профілактики є надзвичайно актуальним завданням ветеринарної науки. Не менш важливим залишається пошук методів одночасного застосування вакцинних препаратів проти кількох патогенних збудників та створення асоційованих вакцин. Перевага асоційованих вакцинних препаратів полягає у створенні в короткий термін несприйнятливості організму тварин одночасно до декількох збудників у залежності від епізоотичної ситуації в господарстві, районі чи регіоні [1, 5, 6].

Метою нашої роботи було вивчити можливість використання специфічних засобів в системі заходів щодо лікування та профілактики асоційованих бактеріозів кінцівок у великої рогатої худоби.

Матеріали та методи досліджень. Штами *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* для виготовлення асоційованої вакцини ізолювали із біологічного матеріалу відібраного від корів з гнійно-

некротичними ураженнями ратиць. Для виготовлення вакцини місцеві штами вирощували роздільно на відповідних живильних середовищах. Вирощені культури перевіряли на чистоту росту, після чого інактивували формаліном. Інактивовані культури концентрували центрифугуванням. Отримані осадки антигенів роздільно ресуспензували формалінованим фізіологічним розчином, і готували суспензії клітин кожного інактивованого штаму роздільно. Антигени і фільтрат контролювали на стерильність і чистоту. Фільтрат перевіряли на повноту інактивації. Інактивовані формаліном антигени змішували в концентрації по 10 млрд мікробних клітин в 1 см³ в необхідній кількості, перемішували і до суміші додавали ад'ювант гідроокис алюмінію. Готовий препарат перемішували для проведення сорбції, перевіряли на стерильність, доводили рН до 6,9-7,2. Стерильність дослідної серії асоційованої вакцини перевіряли відповідно до ГОСТу 28085-89 «Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности» [7].

Ефективність вакцини вивчали в умовах науково-навчальної клініки факультету ветеринарної медицини Сумського НАУ на кролях масою 2,5 ± 0,1 кг, яких поділили на дві групи по 5 голів у кожній. Тваринам першої (дослідної) групи вводили асоційовану вакцину підшкірно в ділянці шиї у дозі 1 см³. Тварини другої (контрольної) групи не підлягали щепленню. Від тварин відбирали проби крові на 15-ту, 30-ту та 60-ту добу після щеплення для вивчення динаміки показників імунної системи. Дослідження проб крові проводили щоразу після відбору. При цьому визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, Т-, В-лімфоцитів, бактерицидну, лізоцимну та фагоцитарну активність сироватки крові та титри специфічних антитіл до *F. necrophorum*. Для визначення кількості окремих видів лейкоцитів виводили лейкограму. Кількість Т- і В-лімфоцитів визначали методом «спонтанних» розеток (розеткоутворення з еритроци-

тами барана) [8, 9].

Результати досліджень. В якості препарату специфічної дії було розроблено вакцину з епізоотичних штамів проти асоційованих бактеріозів кінцівок великої рогатої худоби. Вакцина представляла собою суспензію інактивованих формаліном антигенів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*. Для розробки асоційованої вакцини були використані виробничі штами виділені від хворих корів.

Аналіз даних таблиці 1 свідчить, що у кролів

дослідної групи, одноразово щеплених асоційованою вакциною із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* збільшилася кількість лейкоцитів на 23,1 %, Т- та В-лімфоцитів на 15,8 % та 42,4 % відповідно, бактерицидна та лізоцимна активність сироватки крові підвищилася на 33,3 % та 10,8 % відповідно. Відзначали також підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів на 17,9 %.

Таблиця 1

Динаміка показників крові кролів щеплених асоційованою вакциною із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* (M±m)

Показники	Група тварин	Терміни дослідження, днів			
		до щеплення	на 15-ту	на 30-ту	на 60-ту
лейкоцити, Г/л	1 Д	7,8±0,74	9,6±0,4	8,2±0,58	7,8±0,2
	2 К	7,8±0,37	7,6±0,25	7,4±0,51	7,6±0,51
Т-лімфоцити, %	1 Д	53,2±0,58	61,6±1,03	65,4±0,87	58,6±0,93
	2 К	53,4±0,25	53,6±0,51	54,4±0,51	54,2±0,37
В-лімфоцити, %	1 Д	13,2±0,37	18,8±0,49	16,8±0,37	14,8±0,37
	2 К	13,6±0,24	13,8±0,58	13,6±0,51	13,6±0,51
бактерицидна активність, %	1 Д	29,4±0,51	39,2±0,58	40,2±0,58	33,8–0,74
	2 К	29,6±0,25	29,6±0,81	29,4±0,51	29,4±0,51
лізоцимна активність, %	1 Д	7,4±0,4	8,2±0,2	7,8±0,37	7,8±0,2
	2 К	7,6±0,4	7,8±0,37	7,6±0,24	7,8±0,37
ФА, %	1 Д	11,2±0,58	13,2±0,37	13,4±0,4	11,6±0,25
	2 К	11,4±0,67	11,6±0,51	11,4±0,25	11,4±0,25

На тридцяту добу після щеплення кількість лейкоцитів та В-лімфоцитів дещо знизилась порівняно з 15-тою добою досліду, кількість Т-лімфоцитів збільшилася на 5,5 %. Відмічали також підвищення активності бактерицидної та зниження лізоцимної активності сироватки крові на 2,6 % та 5,1 % відповідно. Фагоцитарна активність нейтрофілів не змінювалася. На кінець досліду показники крові дослідних і контрольних тварин вірогідно не відрізнялися.

Таким чином, у кролів щеплених асоційованою вакциною із місцевих виробничих штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* на 15-ту добу збільшується кількість лейкоцитів, Т- та В-лімфоцитів, підвищується бактерицидна та лізоцимна активність сирова-

тки крові та фагоцитарна активність нейтрофілів.

У виробничих умовах було обстежено 636 голів корів на наявність симптомів ураження кінцівок. В результаті огляду було виявлено 68 тварин (10,7 %) з ураженнями кінцівок різного ступеню. Для визначення профілактичної ефективності вакцини в умовах господарства було сформовано за принципом аналогів три групи тварини. Тваринам першої дослідної групи підшкірно вводили асоційовану вакцину виготовлену із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* у дозі 2,5 см³. Коровам другої дослідної групи вакцину вводили у дозі 5 см³. Тварини третьої контрольної групи не підлягали лікувально-профілактичним обробкам (табл. 2).

Таблиця 2

Вивчення ефективності асоційованої вакцини із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*

Група тварин	Профілактичні заходи	Захворіло	
		гол	%
1 дослідна (n=20)	асоційована вакцина із штамів <i>F. necrophorum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> та <i>P. vulgaris</i> у дозі 2,5 см ³ підшкірно	3	15
1 дослідна (n=20)	асоційована вакцина із штамів <i>F. necrophorum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> та <i>P. vulgaris</i> у дозі 5 см ³ підшкірно	2	10
3 контрольна (n=20)	-	4	20

За результатами спостереження у тварин першої та другої дослідних групі впродовж перших трьох місяців захворюваність становила 0 %, у третій контрольній групі захворіло в цей період дві тварин. Впродовж четвертого місяця досліду в першій дослідній та третій контрольній групах захворюваність становила 10 %, у другій дослід-

ній – 5 %. Через п'ять місяців від початку досліду у першій та другій дослідних групах налічувалося 3 (15 %) та одна (5%) хворих тварин відповідно тоді, як у третій контрольній в цей період захворіло 4 (20 %) тварин. На кінець досліду відсоток захворюваності у першій та другій дослідних групах становив 15 % та 10 % відповідно, у контро-

льний 20.%.
Таким чином, застосування вакцини у дозі 5 см³ забезпечувало захист 95.% тварин протягом 5-ти місяців.

На наступному етапі нами було проведено оцінку ефективності асоційованої вакцини із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* у комплексі із неспецифічними засобами.

Для досліду було підібрано за принципом аналогів чотири групи здорових корів по 50 голів у кожній. Коров першої групи щеплювали асоційованою вакциною у дозі 5 см³ підшкірно. У другій групі тварин для профілактики асоційованих бактеріозів кінцівок застосовували копитні ванни один раз на тиждень впродовж усього періоду

досліджень. Тварин третьої групи щеплювали асоційованою вакциною із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* у дозі 5 см³ підшкірно та застосовували копитні ванни один раз на тиждень впродовж усього періоду досліджень. Контролем у досліді були корови четвертої групи, які не підлягали профілактичним обробкам (табл. 3.).

В результаті проведених нами досліджень встановлено, що протягом чотирьох місяців у першій групі тварин щеплених вакциною проти асоційованих бактеріозів випадків захворювання виявлено не було. Одна тварина захворіла на п'ятому місяці досліді і ще одна тварина через п'ять місяців після щеплення. Захворюваність на кінець досліді становила 4 %.

Таблиця 3.

Результати випробування асоційованої вакцини із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* у виробничих умовах

Група тварин	Лікувально-профілактичні заходи	Захворіло	
		гол	%
1 дослідна (n=50)	асоційована вакцина із епізоотичних штамів <i>F. necrophorum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> та <i>P. vulgaris</i> у дозі 5 см ³ підшкірно	2	4
2 дослідна (n=50)	ванни з 1% розчином Бровадезу плюс один раз на тиждень	1	2
3 дослідна (n=50)	асоційована вакцина із епізоотичних штамів <i>F. necrophorum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> та <i>P. vulgaris</i> у дозі 5 см ³ підшкірно, ванни з 1% розчином Бровадезу плюс один раз на тиждень	-	-
4 контрольна (n=50)	-	4	8

У другій групі корів захворюваність складала 2 %. У тварин третьої групи протягом періоду спостережень випадків захворювання виявлено не було. Захворюваність у контролі становила 8 %.

Висновки. 1. У кролів щеплених асоційованою вакциною із епізоотичних штамів *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris* на 15-ту добу збільшується

кількість лейкоцитів, Т- та В-лімфоцитів, підвищується бактерицидна та лізоцимна активність сироватки крові та фагоцитарна активність нейтрофілів.

Застосування асоційованої вакцини у комплексі з неспецифічними засобами надійно профілактує асоційовані бактеріози кінцівок у великої рогатої худоби.

Список використаної літератури:

1. Риженко В. П. Теоретичне і експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. — 2008. — № 13 (1). — С. 51–62.
2. Риженко В. П. Особливості імуногенезу при застосуванні асоційованих вакцин / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, В. В. Риженко // Проблеми и перспективы паразитологии. — Харьков-Луганск, 2007. — С. 149–150.
3. Улько Л. Г. Поширення бактеріальних захворювань кінцівок серед поголів'я великої рогатої худоби в господарствах Північно-Східного регіону України / Л. Г. Улько // Наук. праці Півд. філіалу Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України «Крим. агротехнол. ун-т». Сер. «Вет. науки». — Сімферополь, 2012. — Вип. 144. — С. 179–183.
4. Улько Л. Г. Основні бактеріальні асоціації за гнійно-некротичних уражень дистального відділу кінцівок у великої рогатої худоби / Л. Г. Улько // Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Ґжицького. — 2012. — Т. 14. — № 2 (52). — Ч. 1. — С. 359–365.
5. Риженко В. П. Актуальні питання профілактики некробактеріозу / В. П. Риженко // Вет. мед. України. — 1998. — № 1. — С. 13–15.
6. Риженко В. П. Імунопрофілактика некробактеріозу / В. П. Риженко // Ветеринарна медицина України. — 1999. — № 5. — С. 18–20.
7. Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности : ГОСТ 28085-89. — М. : ФГУП Стандартиформ, 2007 – 7 с.
8. Биргер М. О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / М. О. Биргер. — М. : Колос, 1982. — 241с.
9. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции. Справочник / Б. И. Ан-

Улько Л.Г., Фотина Т.И. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СРЕДСТВ В СИСТЕМЕ КОНТРОЛЯ АССОЦИИРОВАННЫХ БАКТЕРИОЗОВ КОНЕЧНОСТЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В статье рассмотрены вопросы возможности применения ассоциированной вакцины из эпизоотических штаммов *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* и *P. vulgaris* для профилактики ассоциированных бактериозов конечностей крупного рогатого скота. У кроликов привитых ассоциированной вакциной на 15-е сутки увеличивается количество лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, повышается бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови и фагоцитарная активность нейтрофилов. Установлено, что применение ассоциированной вакцины в дозе 5 см³ обеспечивает защиту 95 % животных в течение 5-ти месяцев, а в комплексе с неспецифическими средствами надежно профилактирует ассоциированные бактериозы конечностей у крупного рогатого скота.

Ключевые слова: Ассоциированная вакцина, кролики, коровы, эпизоотическая штаммы *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, ассоциированные бактериозы.

Ulko L., Fotina T. EFFICIENT USE OF SPECIFIC FUNDS CONTROL SYSTEM ASSOCIATED BACTERIOSIS HOOF CATTLE

The article deals with the possibility of application of vaccine associated with epizootic strains of *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* and *P. vulgaris* for the prevention of associated bacteriosis hooves of cattle. In rabbits vaccinated associated vaccine on the 15th day increases the number of white blood cells, T- and B-lymphocytes and increased bactericidal and lysozyme activity blood serum and phagocytic activity of neutrophils. It was established that the use of associated vaccine dose of 5 cm³ provides protection 95 % of the animals within 5 months, and in combination with nonspecific agents reliable prevention associated bacteriosis hooves in cattle.

Keywords: associated vaccine, rabbits, cows, epizootic strains of *F. necrophorum*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, associated bacteriosis.

Рецензент: д.вет.н., професор Кассіч В.Ю.
Дата надходження до редакції: 13.12.2013 р.

УДК 619:636.4.082:575.1:577.2.

РОЗРОБЛЕННЯ ПЛР-ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ ІНДИКАЦІЇ CHLAMYDIA FELIS У БІОЛОГІЧНИХ ЗРАЗКАХ ВІД СВІЙСЬКИХ КОТІВ

І. М. Ксьонз, к.вет.н., ст.науковий співробітник,
Т. М. Цівенко, науковий співробітник,
К. Ф. Почерняєв, к.біол.н.,
С. М. Корінний, здобувач.

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

Розроблено ПЛР-тест-систему для діагностики хламідіозу свійських котів, до складу якої входять олігонуклеотидні праймери, що фланкують ділянку гена MOMP *Chlamydia felis*. Ідентичність продукту ампліфікації підтверджено шляхом рестрикційного аналізу з використанням ендонуклеази *Alu I*. Означена ПЛР-тест-система випробувана на 50 позитивних і 25 негативних зразках ДНК *Chlamydia felis*, а також успішно пройшла валідацію із комерційно доступними ПЛР-тест-системами для діагностики хламідійних інфекцій ссавців і птахів.

Ключові слова: хламідіоз, свійські коту, *Chlamydia felis*, полімеразна ланцюгова реакція, олігонуклеотидні праймери.

Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями. Хламідіоз котів є досить розповсюдженим інфекційним захворюванням даного виду тварин. За нашими дослідженнями причиною кон'юнктивітів, уражень респіраторного та уrogenітального трактів даного виду тварин у 44 % є хламідійна інфекція [1].

Разом з тим, досить часто правильний діагноз не є встановленим, що призводить до неаде-

кватної терапії і, відповідно, до ускладнення захворювання. При цьому не слід забувати, що хламідіоз є зоонозною інфекцією і відомі випадки зараження людей від хворих на хламідіоз котів [2–4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор. За повідомленнями різних авторів збудником хламідіозу свійських котів є виключно *Chlamydia felis* [2–4].