

*Бердник В.П., доктор ветеринарних наук*  
Полтавська державна аграрна академія

## ВИГОТОВЛЕННЯ ТА ВИПРОБУВАННЯ ВАКЦИНИ ІЗ МІКОПЛАЗМ ПОВІДОМЛЕННЯ 1. ВИГОТОВЛЕННЯ ВАКЦИНИ З АТЕНУЙОВАНИХ ШТАМІВ П'ЯТИ ВИДІВ МОЛІКУТІВ ТА ВИПРОБУВАННЯ ЇЇ НА ПОРОСЯТАХ-СИСУНАХ У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

*Рецензент – кандидат ветеринарних наук С.Б. Передера*

*Наведені результати виготовлення та випробування в лабораторних умовах на поросятах-сисунах атенуйованої вакцини з п'яти видів молютків. Щеплена в носову порожнину вакцина викликала у поросят перебудову клінічних, фізіологічних та імунологічних показників як до генетично чужого фактора. Вона не забезпечувала поросят від зараження епізоотичними культурами мікоплазм чи нативним матеріалом від хворих на мікоплазмоз поросят, хоча різко зменшувала ступінь ураження легень запаленням та обсіменіння їх бактеріями.*

**Ключові слова:** вакцина, мікоплазми, мікоплазмоз, культури, штами, щеплення.

**Постановка проблеми.** Результати численних досліджень показали, що близько 60% пневмоній у господарствах України – наслідок захворювання свиней мікоплазмозом. Його збудниками є *Mycoplasma (M) hyorhinis*, *M. arginini*, *M. hyorhynchiae*, *M. hyosynoviae*, *Acholeplasma (A.) laidlawii* переважно у вигляді асоціацій із двох-трьох видів [4].

Для боротьби з мікоплазмозом та його профілактики застосовують комп-лекс заходів, що включає поліпшення умов годівлі, догляду та утримання тварин, застосування препаратів, до яких чутливі мікоплазми, зокрема, анти-біотики (тетрацикліни, тилозин, тілан, тіамулін, хлорамфенікол, фразидин, лайдломіцин, спектиноміцин, спектам, лінкоміцин та ін.). Однак мікоплазми є мембранними й внутріклітинними паразитами. Під мембраною зі сторони вмістимого клітини (мікроструктурної частини мікоплазми) вони можуть бути недосяжними для лікувальних препаратів. Через це їх застосування дає лише частковий і тимчасовий позитивний результат: із їх допомогою можна лише зменшити ступінь поширення мікоплазмозу, а не ліквідувати вогнища його виникнення [4]. Тому науковці країн із роз-виненим свинарством (США, Англії, Японії та ін.) вимушені вести по-шуки методів розробки та застосування специфічних засобів боротьби із мікоплазмозом.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Історія вирішення проблеми специфічної профілактики мікоплазмозу свиней розпочалася близько 60 років тому. В ній умовно можна виділити три основні етапи:

- наукових спостережень при дослідженні причин виникнення пневмоній у свиней;
- випробування експериментальних зразків вакцин із штамів мікоплазм у лабораторних і польових умовах (у господарствах);
- застосування в неблагополучних щодо мікоплазмозу господарствах вакцин, виготовлених на біофабриках і подальше їх удосконалення.

У наступних шести повідомленнях буде даватися аналіз численних наукових публікацій та власні експериментальні дані щодо розв'язання названої проблеми.

Перші дослідники етіології ензоотичної пневмонії в якості інфекційного матеріалу застосовували суспензію легеневої тканини хворих свиней. Ця суспензія, введена поросяткам у черевну порожнину чи в м'язи, не захищала їх від повторного зараження [14-15], а підшкірно – часто викликала сенсibiliзацію до великих доз інфекційного матеріалу [14]. Якщо ж суспензію інокулювали в дихальні шляхи, і поросята самовиліковувалися від експериментальної пневмонії, то вони ставали стійкими до повторного зараження [5, 21, 24, 26, 37].

У свинарських господарствах, неблагополучних стосовно мікоплазмозу, клінічні ознаки захворювання реєструють переважно серед молодняку. Пояснення було одне: дорослі свині уже хворіли раніше. Після занесення збудника (*M. hyorhynchiae*) в благополучне із мікоплазмозу стадо хворіли свині всіх вікових груп [36]. Спостереження свідчили про принципову можли-вість профілактики мікоплазмозу шляхом імунізації.

Вперше як вакцину використали культуру *M. hyorhynchiae* (*suipneumoniae*), інактивовану формаліном. Її ввели двічі поросяткам, вільним від

збудників інфекційних захворювань. При першому щепленні до вакцини додавали рівну за об'ємом кількість повного ад'юванту Фрейнда. Вакцинація не захищала поросят від повторного зараження, але викликала зменшення ступеня ураження легень серозно-катаральним запаленням [33].

На поросятах 6-15-тижневого віку випробувані вакцини зі штамів інактивованих збудників *M. hyorheumoniae* [10, 21, 24, 27, 29, 30, 32], *M. hyorhinis* [1, 13] та підсвинках – із *M. hyosynoviae* [29].

В експериментальних умовах спостерігали лише частковий захист поросят від захворювання на мікоплазмоз після введення гіперімунної сироватки проти *M. hyorheumoniae* [25] і *M. hyorhinis* [20].

Вакцини із живих, атенуйованих штамів *M. pneumoniae* успішно випробували на людях-добровольцях [ 6-8, 9, 16], а зі штамів *M. hyorheumoniae* – на свинях [ 17, 18, 25].

Зразки вакцин приготували також із температурочутливих мутантів (тч-мутантів) *M. pneumoniae* [34]. Їх випробування дало позитивні результати на хом'яках [35] та людях-добровольцях [17, 23].

У двох лабораторних дослідах на 44 поросятах-сисунах 14-16-добового віку ( перше щеплення вакцини) випробувано чотири варіанти вакцини. Для поросят досліду 1 її готували із тч-мутанту М-60 *M. arginini* (одновалентна вакцина), а досліду 2 – із тч-мутанту М-60 та атенуйованих штамів Ч-2 *M. hyorhinis* і J *M. hyorheumoniae* (трёхвалентна вакцина ) та штамів М-60, Ч-2, ЄР-29 ( *M. hyosynoviae*), J та В-1 *A. laidlawii* (п'ятивалентна вакцина). Дослідники [12] спостерігали у поросят, щеплених вакциною, такі ж відхилення клінічних та імунологічних показників, як і у заражених культурами мікоплазм [2, 4]. Однак у щеплених тварин вони були виражені значно слабше. В атенуйованих штамів виявили залишкову вірулентність, яка за період спостереження в лабораторних умовах суттєво не вплинула на ріст та розвиток поросят.

Висновки щодо проведених перших випробувань зразків мікоплазменних вакцин були наступними: щеплення інактивованих вакцин давало лише частковий запобіжний ефект. Його вдавалося підвищити шляхом застосуванням ад'ювантів, які, щоправда, викликали значні місцеві реакції. Інактивовані вакцини із додаванням ад'ювантів мали досить високу вартість і забезпечували значно нижчий рівень захисту, ніж після самовилікування від захворювання на пневмонію в умовах господарства. Більшу ефективність мали вакцини з

атенуйованих штамів мікоплазм, однак при введенні в дихальні шляхи. Крім того, необхідно ще відпрацювати методику одержання певного рівня атенуації штамів мікоплазм і збереження їх антигенності. Перспективними є і вакцини із тч-мутантів [4, 12, 37].

**Мета досліджень і методики їх проведення.** Мета роботи – виготовити вакцину із тч-мутанта та атенуйованих штамів мікоплазм і випробувати її на поросятах у лабораторних умовах.

Поросят для дослідів одержали в лабораторних умовах від 4 свиноматок із господарства, благополучного щодо інфекційних захворювань.

Для виготовлення вакцини використали штам *M. 60 Mycoplasma (M.) arginini* 37-39 і 84 пересівів, Ч-2 *M. hyorhinis* 62-79 пересівів, J. *M. hyorheumoniae* 32-36 пересівів, ЄР – 29 *M. hyosynoviae* 30-33 пересівів, В-1 *Acholeplasma (A) laidlawii* 29-32 та 58-59 пересівів. Їх відібрали з урахуванням рівнів імуногенності для кроликів [4].

Штами 407, Ч-2, ЄР-29 та В-1 були виділені з уражених серозно-катаральним запаленням легень свиней, хворих на мікоплазмоз [2, 4]. Штам М-60 є тч-мутантом, одержаним із патогенного для свиней штаму 407 *M. arginini* [31, 3] за описаним методом [31]. Штам J – референтний [4].

Для підтримання в біологічно активному стані, вирощування та аттенуації культур молікутів застосовували описані живильні середовища [4].

В якості вакцини використовували суміш із рівних об'ємів 3-5-добових свіжовирощених культур молікутів у рідкому живильному середовищі. Культуру кожного штаму вирощували в окремій посудині (колбі чи бутилі), перевіряли на специфічність росту (висів на щільне живильне середовище для мікоплазм), бактеріальну стерильність (висіви на МПБ, МПА, середовище Кітт-Тароцці) та нешкідливість (зараження білих мишей). Крім того в кожній культурі, а далі і в їх суміші, визначали урожайність у колонієутворюючих одиницях (КУО)/мл чи кольорозмінюючих одиницях (КЗО)/мл (штам J) за описаними методиками [2-3]. Виготовлені зразки вакцини застосували поросяттам згідно зі схемою, наведеною в табл. 1. Поросяттам помету 1 та 2 почали щеплювати вакцину із 18-добового віку, а помету 3 – із 28-добового. Поросяттам помету 2 перший раз вводили вакцину із мікоплазм в носову порожнину та проти паратифу в м'язи в один день.

Через 27-35 днів після щеплення вакцини забили із діагностичною метою 11 поросят (по 1-3 із кожної групи) – залишилося 26. Із них 12 поросят заразили через 32-40 днів після імунізації 20% суспензією з нативного матеріалу, а 14 – через 39-40

## ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

діб сумішню бульйонних культур мікоплазм.

В якості нативного матеріалу були проби уражених серезно-катаральним запаленням легень 5 поросят 3-4-місячного віку, забитих із діагностичною метою в трьох господарствах, неблагополучних щодо мікоплазмозу. Із нього ж виділили і культури *M. hyorhinis* (ЄР-56к, В-48к,

В-49к, Мл-23, ІХ-1), *M. arginini* (Єр-55щ, ЄР-56 щ), *A. laidlawii* (ЄР-55 к-1), які застосували для зараження поросят. Додатково до них

взяли ще штами 407 *M. arginini*, ЄР-29 *M. hyosynoviae* та J M. *hyorheumoniae*, які зберігали в ліофільному стані. Суспензію легень вводили поросят у носову порожнину по 2 мл п'ять разів із 24-годинним інтервалом, а концентровану центрифугуванням суміш культур мікоплазм – по 10 мл також 5 разів із інтервалами 48-72 години. Кожне поросся одержало всього близько 2,34.10x10 КОЕ мікоплазм. Поросят вивели із досліду через 29-30 днів після початку зараження.

### 1. Схеми щеплення поросят вакцини із мікоплазм

Варіанти вакцини чи плацебо	Помет №	Кількість поросят	Спосіб введення	Кратність введень і дози вакцини чи плацебо	Загальна доза мікоплазм, КУО
Суміш культур мікоплазм	1	8	нп	з інтервалом 12 днів і 21 добу по 2 мл, 3 та 5 мл	4,22.10x8
Суміш культур мікоплазм та вакцина проти паратифу із шт. ТС-177	2	10	нп	Також	4,22.10x8
			вм	з інтервалом 23 доби по 0,3 та 0,8 мл	-
Суміш культур мікоплазм	3	9	нп	з інтервалом 21 доба по 4 та 6 мл	4,06.10 x8
Контроль: - рідке живильне середовище (К-1)	4	5	нп	з інтервалом 12 днів і 21 добу по 2 мл, 3 та 5 мл	-
- вакцина проти паратифу (К-2)		5	вм	з інтервалом 23 доби по 0,3 та 0,8 мл	-

### 2. Результати аналізу температурної реакції (40 °С і більше) у поросят після щеплень вакцини та контрольного зараження

Помет №	Кількість поросят	Щеплення № або інфект	Температура °С		К-ть поросят із температурою 40 °С і вище	Період температурної реакції після щеплення, днів	К-ть ремісій одночасно у всіх поросят групи
			М ± m	максимальна			
Після щеплення вакцин							
1.	8	1	-	-	-	-	-
		2	40,15 ± 0,02	40,4	8	2-21	-
		3	40,10 ± 0,04	40,2	4	1-3	-
2.	10	1	40,11 + 0,07	40,5	4	2-3	-
		2	40,19 + 0,03	40,6	8	1-21	-
		3	40,16 + 0,03	40,3	5	1-2	-
3.	9	1	40,10 + 0,02	40,2	5	5-16	-
		2	40,18 + 0,04	40,7	9	2-14	-
4к	10	-	-	-	-	-	
Після контрольного зараження							
1.	3	нм	40,44 + 0,11	41,3	3	3-22	2
	3	км	40,18 + 0,09	40,5	3	4-11	1
2.	3	нм	40,74 + 0,11	41,6	3	4-24	3
	4	км	40,49 + 0,11	41,3	4	2-12	1
3.	3	нм	40,49 + 0,11	42,0	3	2-19	4
	3	км	40,53 + 0,11	41,8	3	2-15	1
4к	3	нм	40,45 + 0,09	41,5	3	4-23	8
	4	км	40,28 + 0,05	41,1	4	2-18	3

*Примітка:* нм – нативний матеріал; км – культури мікоплазм.

За поросятами встановили постійне клінічне спостереження. До щеплення вакцини і через 7 діб після кожного щеплення у них брали проби крові для визначення гематологічних, клінічних та імунологічних показників. Після виведення із дослідів поросят дослідили з допомогою патологоанатомічного, бактеріологічного та мікоплазматичного методів [2, 4].

Цифрові дані обробили методом варіаційної статистики [9].

**Результати досліджень.** Клінічний стан поросят після щеплення вакцини в цілому був задовільним. Результати аналізу динаміки температурної реакції у них наведені в табл. 2. Як видно із даних табл. 2, у поросят, яким перший раз щепили вакцину із 18-добового віку, температура тіла була в межах норми (до 40,0 °C), а із 28-добового – підвищеною до 40,2 °C у 71,4% випадків. Після другого введення вакцини температурна реакція була максимальною за висотою (близько 40,4-40,7 °C) та тривалістю (від 1-2 діб до 14-21 доби) з охопленням 80-100% поголів'я, а третього – значно слабшою. Найбільш вираженою була температурна реакція у поросят, щеплених проти мікоплазмозу та паратифу. У частини поросят пометів 2 та 3 спостерігали короткотривалий пронос.

У всіх поросят, заражених нативним матеріалом і в меншій мірі культурами мікоплазм, загальний стан був незадовільним. У них спостерігали із 2-4 доби значно вищий рівень температури тіла, ніж після вакцинації. Проте максимальним (близько 42,0 °C) він був у поросят, щеплених двічі, та у контрольних. По двоє поросят із кожного помету мали напади кашлю, деякі – прискорене дихання, знижений апетит, пронос, пригнічення і приймали позу сидячої собаки.

У табл. 3 наведені результати визначення у поросят гематологічних, біохімічних та імунологічних показників. Із неї видно, що динаміка названих показників була, в основному, аналогічною у поросят пометів 1 та 2, яким щепили вакцину з мікоплазм за однаковою схемою із 18-добового віку. Однак, порівняно з ними, вона мала свої особливості у поросят помету 3, яким щепили вакцину із мікоплазм із 28-добового віку й лише два рази, але в такій же загальній дозі за об'ємом та кількістю КУО.

У поросят пометів 1 та 2 впродовж усіх трьох щеплень вакцини виявляли достовірно нижчу кількість еритроцитів, порівняно з контролем. Окрім того, після першого введення вакцини спостерігали достовірне збільшення кількості загального білку в пробах сироватки крові та

зменшення кількості лейкоцитів за рахунок сегментоядерних нейтрофілів і лімфоцитів.

Наслідком другого щеплення вакцини було зменшення кількості лейкоцитів через нижчий рівень сегментоядерних нейтрофілів і лімфоцитів при одночасному збільшенні числа еозинофілів, зменшення ФА та ФЧ нейтрофілів.

Після третього введення вакцини у поросят збільшилися рівні ШОЕ, загального білку в сироватці крові, гемоглобіну в крові та лейкоцитів за рахунок юних і паличкоядерних нейтрофілів і лімфоцитів, а також ФЧ.

Поросята помету 3 мали наступну динаміку показників: після першого щеплення вакцини у них достовірно меншими, ніж у контролі, були показники ШОЕ, і кількість лейкоцитів за рахунок сегментоядерних нейтрофілів і лімфоцитів, але при збільшенні числа еозинофілів. Достовірно вищими були показники загального білку в сироватці крові та гемоглобіну. Після другої вакцинації спостерігали лейкоцитоз через збільшення кількості юних і паличкоядерних нейтрофілів та еозинофілів, а також зниження ФА і ФЧ нейтрофілів.

Результати досліджень сироваток крові поросят на виявлення гомологічних комплексів зв'язуючих антитіл та аглютининів наведені у табл. 4, із якої видно, що у всіх поросят пометів 1-3 виявили гомологічні КЗ-антитіла, 4 поросят – із помету 1, 5 – із помету 2 та всі 7 із помету 3 мали також і аглютиніни. Титри КЗ-антитіл склали переважно 1:10 – 1:40, а аглютининів – 1:5 – 1:10. При серологічних дослідженнях контрольних поросят у РТЗКМО та РА із гомологічними мікоплазменними антигенами одержали негативні результати.

У таблиці 5 наведені результати патологоанатомічних та мікробіологічних досліджень поросят. Як видно із даних таблиці 5, після щеплення вакцини ураження легень серозно-катаральним запаленням виявили у 1 (12,5%) із 8 поросят, зараження нативним матеріалом – усіх 9 (100,0%) і культурами мікоплазм – 4 (40,0%) із 10 поросят. Проте ступінь ураження легень запальним процесом була різною. Вона складала у вакцинованих 0,1 % (контроль – 0), у вакцинованих і заражених культурами від 0,3 до 1,2 % (контроль – 7,7%), а нативним матеріалом – 19,8-32,8 % (контроль – 48,6 %).

Таким чином, культури мікоплазм, із яких готували вакцину, мали залишкову вірулентність. Однак її щеплення зменшувало у поросят ступінь ураження легень пневмонією в 6,4-25,7 разу після зараження епізоотичними культурами мікоплазм і в 1,5-2,5 разу – нативним матеріалом.

**3. Гематологічні, біохімічні та імунологічні показники поросят-сисунів після щеплення вакцини із п'яти видів мікоплазм за різними схемами,  $M \pm m$**

Показники	Помети або групи тварин	До введення вакцини	Після введення вакцини		
			першого	другого	третього
ШОЕ, мм/год.	1	2,00 ± 0,31	2,17 ± 0,31	3,00 ± 0,51	15,30 ± 2,10*
	2	2,30 ± 0,71	1,50 ± 0,34	2,00 ± 0,00	13,80 ± 1,90*
	3	1,90 ± 0,45	1,14 ± 0,14''	1,30 ± 0,19	–
	K1	2,10 ± 0,38	3,00 ± 0,77	4,60 ± 1,25	1,80 ± 0,58
	K2		2,00 ± 0,55	2,20 ± 0,80	2,40 ± 0,51
ШОЕ, мм/добу	1	40,30 ± 2,20	38,30 ± 4,70	27,20 ± 1,90	36,30 ± 2,26*
	2	45,20 ± 5,35	35,50 ± 5,10	24,80 ± 1,17''	36,80 ± 0,48''
	3	22,33 ± 4,88	5,29 ± 0,47*	10,00 ± 1,07	–
	K1	39,00 ± 2,47	31,60 ± 5,20	28,00 ± 3,14	12,40 ± 2,69
	K2		23,40 ± 6,03	17,40 ± 2,96	17,60 ± 4,60
Загальний білок сироватки крові, %	1	5,90 ± 0,15	6,37 ± 0,09*	5,57 ± 0,08 <sup>+</sup>	6,18 ± 0,09 <sup>+</sup>
	2	5,81 ± 0,18	6,24 ± 0,11''	5,52 ± 0,12	6,22 ± 0,11 <sup>+</sup>
	3	5,23 ± 0,04	5,07 ± 0,10	5,70 ± 0,14	–
	K1	–	5,34 ± 0,09	5,24 ± 0,07	5,85 ± 0,21
	K2	5,68 ± 0,12	5,56 ± 0,12	5,61 ± 0,28	5,74 ± 0,17
Гемоглобін, г %	1	7,32 ± 0,30	7,73 ± 0,43	10,20 ± 0,50	11,50 ± 0,20''
	2	7,40 ± 0,28	7,67 ± 0,30''	10,80 ± 0,70	11,90 ± 0,37 <sup>+</sup>
	3	9,73 ± 0,41	11,30 ± 0,36 <sup>+</sup>	10,60 ± 0,37	–
	K1	7,65 ± 0,10	8,52 ± 0,36	10,30 ± 0,20	9,16 ± 0,62
	K2	–	10,10 ± 0,49	11,20 ± 0,54	10,12 ± 0,63
Еритроцити, млн./мкл	1	4,87 ± 0,13	4,43 ± 0,26''	4,34 ± 0,15*	6,08 ± 0,40''
	2	4,86 ± 0,09	4,42 ± 0,22''	4,39 ± 0,19*	6,24 ± 0,27''
	3	4,83 ± 0,29	7,11 ± 0,34	6,89 ± 0,37	–
	K1		5,50 ± 0,06	6,30 ± 0,29	7,25 ± 0,46
	K2	5,14 ± 0,25	5,35 ± 0,07	7,60 ± 0,37	7,70 ± 0,28
Лейкоцити, тис./мкл	1	6,99 ± 0,38	6,96 ± 0,44''	5,73 ± 0,98*	23,28 ± 2,20 <sup>+</sup>
	2	7,64 ± 0,98	7,13 ± 0,57	6,74 ± 0,26*	22,43 ± 2,00''
	3	9,88 ± 0,83	6,70 ± 0,69*	21,16 ± 0,92''	–
	K1		13,13 ± 1,70	13,60 ± 0,73	15,89 ± 0,69
	K2	8,75 ± 0,61	10,29 ± 1,60	17,33 ± 1,70	13,48 ± 1,00
Лейкоформула, клітин/мкл: Базофіли	1	20,7 ± 13,1	12,7 ± 12,7	14,5 ± 9,3	0
	2	27,2 ± 27,2	20,8 ± 13,2	22,8 ± 14,5	0
	3	41,1 ± 23,3	10,8 ± 10,8	30,3 ± 30,3	–
	K1		39,2 ± 39,2	25,4 ± 25,4	68,0 ± 41,7
	K2	36,7 ± 19,1	54,0 ± 33,2	73,7 ± 45,1	47,0 ± 28,8
Еозинофіли	1	21,8 ± 13,8	75,3 ± 41,2	985,9 ± 130,6 <sup>+</sup>	869,0 ± 202,6
	2	48,7 ± 32,8	55,0 ± 31,4	789,4 ± 103,2 <sup>+</sup>	1106,0 ± 264,0
	3	146,5 ± 49,0	1175,1 ± 132,4*	2876,1 ± 298,6*	–
	K1	37,6 ± 25,1	191,7 ± 47,7	343,3 ± 85,2	939,6 ± 126,9
	K2		149,3 ± 28,3	449,4 ± 97,6	848,0 ± 134,2

Показники	Помети або групи тварин	До введення вакцини	Після введення вакцини		
			першого	другого	третього
Нейтрофіли: - юні	1	200,5 ± 45,0	198,7 ± 73,4	232,8 ± 23,6	1726,4 ± 303,4 <sup>”</sup>
	2	213,3 ± 60,0	204,8 ± 71,9	424,4 ± 96,1	2137,3 ± 454,0 <sup>”</sup>
	3	170,8 ± 49,0	620,1 ± 105,3	1787,1 ± 190,3 <sup>*</sup>	–
	К1		352,2 ± 136,6	342,8 ± 122,8	440,0 ± 92
	К2	283,8 ± 86,0	286,1 ± 85,1	325,9 ± 120,1	233,4 ± 42,8
- паличко- ядерні	1	459,4 ± 90,4	409,7 ± 47,5	287,0 ± 74,0	1982,2 ± 212,5 <sup>”</sup>
	2	517,7 ± 133,7	612,6 ± 80,5	771,9 ± 116,1	2145,3 ± 345,6 <sup>”</sup>
	3	775,3 ± 166,2	516,3 ± 143,7	1889,6 ± 322,4 <sup>+</sup>	–
	К1		968,0 ± 131,1	879,5 ± 264,0	703,6 ± 166,9
	К2	566,4 ± 110,1	643,0 ± 155,7	939,4 ± 120,5	423,4 ± 100,9
- сегменто- ядерні	1	1635,7 ± 84,8	1557,6 ± 222,2 <sup>+</sup>	995,6 ± 121,4 <sup>*</sup>	3933,6 ± 506,0
	2	1787,7 ± 245,2	2168,2 ± 226,9 <sup>+</sup>	1332,8 ± 215,1 <sup>*</sup>	5526,7 ± 850,3
	3	2443,0 ± 142,7	875,8 ± 142,5 <sup>*</sup>	3681,9 ± 309,5	–
	К1		3403,3 ± 768,6	3244,3 ± 243,3	3889,8 ± 360,7
	К2	2242,7 ± 214,5	3983,4 ± 728,6	4228,3 ± 525,3	3577,4 ± 509,1
Лімфоцити	1	4565,0 ± 301,3	4569,7 ± 276,2 <sup>”</sup>	3147,2 ± 554,6 <sup>*</sup>	14476,2 ± 1870,2 <sup>+</sup>
	2	4930,2 ± 588,2	3873,4 ± 250,0 <sup>”</sup>	3329,1 ± 172,5 <sup>*</sup>	11318,0 ± 586,6 <sup>+</sup>
	3	6187,0 ± 641,9	3462,1 ± 422,9 <sup>*</sup>	10743,9 ± 616,4	–
	К1		7959,1 ± 916,6	8689,6 ± 628,2	9752,0 ± 741,8
	К2	5467,1 ± 435,0	5035,5 ± 859,4	11158,1 ± 1180,2	8299,2 ± 555,6
Моноцити	1	88,5 ± 39,40	134,7 ± 48,0	70,3 ± 16,1	292,6 ± 247,20
	2	116,8 ± 43,80	181,1 ± 103,7	71,2 ± 32,4	200,0 ± 73,6
	3	110,9 ± 46,00	39,6 ± 19,7	155,3 ± 77,2	–
	К1		219,5 ± 36,9	75,1 ± 50,4	97,0 ± 64,1
	К2	115,6 ± 29,5	138,7 ± 53,8	155,2 ± 112,4	51,6 ± 51,5
ФА нейтрофілов, %	1	28,00 ± 5,37	37,33 ± 5,43	14,00 ± 1,71 <sup>”</sup>	59,30 ± 6,96
	2	25,30 ± 1,98	30,00 ± 5,91	13,30 ± 2,46 <sup>+</sup>	53,30 ± 4,09
	3	32,40 ± 3,68	26,30 ± 4,30	22,90 ± 3,72 <sup>”</sup>	–
	4К1	22,40 ± 5,30	30,40 ± 4,48	27,20 ± 2,33	44,80 ± 4,96
	4К2	32,00 ± 5,36	37,50 ± 3,70	24,80 ± 6,24	44,00 ± 6,92
ФЧ	1	1,11 ± 0,13	1,87 ± 0,34	0,51 ± 0,10 <sup>”</sup>	3,64 ± 0,32 <sup>+</sup>
	2	1,03 ± 0,10	0,99 ± 0,18	0,40 ± 0,06 <sup>*</sup>	3,45 ± 0,23 <sup>+</sup>
	3	1,32 ± 0,23	2,22 ± 0,47	1,11 ± 0,12 <sup>”</sup>	–
	4К1	0,99 ± 0,27	1,70 ± 0,17	1,06 ± 0,11	2,40 ± 0,31
	4К2	1,04 ± 0,22	2,50 ± 0,72	1,63 ± 0,19	2,58 ± 0,31

Примітки: 1. У цифри зі знаком <sup>+</sup> P < 0,05, <sup>”</sup> P < 0,01, \* P < 0/001, без знаку – P > 0,05.

2. Контролем для поросят помету 1 були поросята групи 4К<sub>1</sub>, помету 2 – 4К<sub>2</sub>, а помету 3 – помету 4К<sub>1</sub>, але з колонки на одне більш пізні щеплення.

**4. Кількість поросят, щеплених вакциною проти мікоплазмозу і паратифу, у крові яких виявлені гомологічні КЗ-антитіла й аглютиніни**

Помет №	К-ть поросят	Щеплення вакцини або плацебо, №	КЗ-антитіла до штамів						Аглютиніни до штамів						Разом КЗ - антитіла й аглютиніни
			407	Ч-2	EP-29	J	B-1	разом	407	Ч-2	EP-29	J	B-1	разом	
1.	6	1	2	-	2	-	1	3	1	-	-	-	-	1	3
		2	2	1	2	2	2	3	1	-	-	-	1	2	3
		3	5	3	4	5	-	6	3	1	1	1	-	3	6
		разом	5	4	5	5	3	6	4	1	1	1	1	4	6
2.	6	1	-	-	3	-	-	3	1	-	-	-	1	2	5
		2	-	-	3	-	-	3	-	2	1	-	-	3	5
		3	2	2	1	1	3	4	2	3	1	-	2	4	5
		разом	2	2	5	1	3	6	3	4	2	-	2	5	6
3.	7	1	1	-	3	-	1	3	-	-	1	-	-	1	3
		2	1	5	7	5	3	7	1	7	1	-	-	7	7
		разом	2	5	7	5	3	7	1	7	2	-	-	7	7
4.	10	контроль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: 1. У пробах сироваток крові, відібраних до імунізації, антитіл до мікоплазм не виявили.

**5. Результати патологоанатомічних та мікробіологічних досліджень легень і бронхіальних лімфатичних вузлів поросят після щеплення вакцини та контрольних заражень**

Помет №	Інфект	К-ть поросят, голів		Ступінь ураження запаленням поверхні легень, %		К-ть поросят, із легень яких виділені мікроорганізми	
		всього	із пневмонією	коливання	середня величина	мікоплазми	бактерії
1	МВ	2	1	0 – 0,2	0,1	1	-
	НМ	3	3	19,1-21,1	19,8	3	3
	КМ	3	1	0-4,0	1,2	2	-
2	МВ	3	-	-	-	-	-
	НМ	3	3	11,9- 43,2	28,7	3	1
	КМ	4	1	0,2 – 2,5	0,6	4	-
3	МВ	3	-	-	-	1*	-
	НМ	3	3	15,5- 57,3	32,8	3	3
	КМ	3	2	0 – 0,8	0,3	2	1
4	-	3	-	-	-	-	-
	НМ	3	3	44,1- 54,8	48,6	3	3
	КМ	4	4	4,7 – 9,9	7,7	4	-

Примітки: 1. Позначення: мв – мікоплазменна вакцина, вп – вакцина проти паратифу, ржс – рідке живильне середовище, нм – нативний матеріал, км – культури мікоплазм.

2. І\* – мікоплазму ізолювали із бронхіального лімфовузла.

Результати мікоплазмозологічних досліджень вакцинованих поросят були позитивними в двох випадках. Із уражених серозно-катаральним запаленням легень поросяти помету 1 виділили *M. arginini*, а з бронхіального лімфатичного вузла поросяти помету 3 – *M. hyorhynis*.

Мікоплазми виділили від 2 (25,0%) із 8 вакцинованих поросят, 10 (83,3%) із 12 заражених культурами і всіх 12 (100,0%), яким інокулювали суспензію нативного матеріалу. До того ж із 13 ізолятів від поросят, заражених культурами мі-

коплазм, типували 5 як *M. hyosynoviae*, 4 – *M. hyorhynis*, 3 – *M. arginini* та 1 ізолят – як *A. laidlawii*. В двох випадках *M. arginini* була в асоціації з *M. hyosynoviae* або *M. hyorhynis*. Від поросят, яких заражали нативним матеріалом, одержали 14 ізолятів: 8 *M. arginini*, 5 *M. hyosynoviae* і 1 *M. hyorhynis*. У трьох випадках були асоціації з цих культур.

Зауважимо, що із легень вакцинованих поросят бактерій не виділили. Від заражених культурами мікоплазм їх ізолювали лише від 1 (7,1%) із

14 поросят. Це була культура *Proteus rettgeri*. В легенях 10 (83,3%) із 12 поросят, заражених нативним матеріалом, виявили 14 культур бактерій, в тому числі 8 – *Corinebacterium ruogenes*, 2 – *Providencia alcalifaciens* та по одній культурі *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pasteurella multocida* і *Proteus rettgeri*.

**Висновки:** 1. Щеплення в носову порожнину вакцини з атенуйованих штамів п'яти видів молікутів викликало у поросят-сисунів перебудову клінічних, біохімічних та імунологічних показників як до генетично чужого фактора.

2. Вакцина мала залишкову вірулентність, яка суттєво не вплинула на загальний стан та фізіологічні показники організму поросят.

3. Щеплення вакцини не забезпечувало поросят від контрольного зараження епізоотичними культурами мікоплазм чи суспензією з уражених

серозно-катаральним запаленням легень поросят, хворих на мікоплазмоз, проте зменшувало ступінь ураження їх легень запаленням у межах 6-26 та 1,5-2,5 разів відповідно.

4. Із легень та бронхіальних лімфатичних вузлів поросят, щеплених вакциною чи заражених культурами мікоплазм, виділені гомологічні культури цих мікроорганізмів, що свідчить про їх існування в названих органах. Одночасно різко зменшується частота виділення бактерій після контрольного зараження культурами мікоплазм (7,1%), порівняно із зараженими суспензією патологічного матеріалу (83,3 %).

5. Випробування 5-валентної вакцини із молікутів у лабораторних умовах довело перспективність вибраного напрямку досліджень щодо розробки засобів і методів специфічної профілактики мікоплазмозу свиней.

### БІБЛІОГРАФІЯ

1. Андросик Н.Н. Изучение эффективности противомикоплазменной вакцинации // Ветеринария. – 1981. – № 11. – С. 26-27.
2. Бердник В.П. Некоторые биологические свойства микоплазм свиней // Дисс... канд. вет. наук. – М., 1973. – 215 с.
3. Бердник В.П., Настенко В.Д., Шиммель Д. Получение мутантов микоплазм и ахолоплазм для изготовления вакцины против инфекционной пневмонии свиней // Проблемы ветеринарной иммунологии. – М., Агропромиздат. – 1985. – С. 118-121.
4. Бердник В.П. Микоплазмоз свиней // Дисс... докт. вет. наук. – М., 1991. – 616 с.
5. Душук Р.В., Притула А.С. Состояние иммунитета у свиней при инфекционной пневмонии // Иммунитет с.-х. животных. – М., 1973. – С. 109-110.
6. Иммунизация добровольцев аттенуированными штаммами *M. pneumoniae* / С.В. Прозоровский, В.И. Васильева, О.И. Бархатова [и др.] // Журн. микробиол. – 1970. – №11. – С. 38-39.
7. Иммуногенные и реактогенные свойства микоплазма пневмонии при разном уровне аттенуации / Л.В. Колесников, М.Г. Шаманова, А.Е. Гродинская [и др.] // Вест. АМН СССР. – 1970. – №8. – С. 41-45.
8. Колесников Л.В. Результаты изучения живой вакцины для специфической профилактики ОРЗ, вызываемых микоплазменной пневмонией // Проблемы гриппа и ОРЗ. – Л., 1974. – Т. 7. – С. 132.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебн. пособие для биол. спец. вузов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
10. Пат. 625623 СССР, М. Кл.<sup>2</sup>, С12К 5/00 А61К 39/00. Способ получения вакцины против респираторных заболеваний животных и птиц, вызываемых микоплазмами / Моримаса Есикова, Ёизо Хаяцу (Япония); Дзе Китасато институт (Япония), № 1966657/30-15; Заявлено 28.09.73; Опублик. 25.09.78. Бюл. № 35. – 10с.
11. Прозоровский С.В. Микоплазма – пневмония инфекция // С.В. Прозоровский, В.И. Покровский, В.И. Васильева. – М.: Медицина, 1978. – 312 с.
12. Собко А.И., Настенко В.Д., Бердник В.П. [и др.]. К разработке методов специфической профилактики микоплазмоза свиней. – Arch. exper. Vet. med. – 1989. – Bd. 43. – Н. 5. – P. 637-655.
13. Стоянов В. Опити за получаване и изпитване на ваксини срещу ензоотичната пневмония по свинете // Ветеринарномед. науки. – 1976. – Т. 13. – № 9. – С. 24-27.
14. Betts A.O. Virus pneumoniae of Pigs and Related Conditions // Ph / D / thesis, Univ. of Cambridge, England. – 1953. – 203 p.
15. Bornfors S., Lannek N. Untersuchungen über die Immunität bei enzootischer Schweinepneumoniae // Nord. Vet. Med. – 1958. – Vol. 10. – P. 426-430.
16. Couch R. B., Cate T.R., Chanoock R.M. Infektion with artificially propagated Eaton agent (*Mycoplasma pneumoniae*). Implicatione for development of ttenuated vaccine for cold agglutinin positive pneumonia // J. A. M. A. – 1964. – Vol. 187, №6. – P. 442-447.
17. Decreased virulence and protective effect of genetically stable temperature-sensitive mutants of *Mycoplasma pneumoniae* / H. Brunner, H. Greenberg, W.D. James, R.L. Horswood // Ann. N.Y.



- Acad. Sci. – 1973. – Vol. 225. – P. 436-452.
18. Experimental immunization against swine mycoplasmal pneumonia with li-ving vaccine by nasal route/ H.Cheng – Lee, Ch. Jing – Hua, e.a. // Yale J. Biol. Med. – 1983. – Vol. 56, N 5-6. – P. 920-921.
19. Experimental studies on the immunity properties of living vaccine 168 against swine mycoplasmal pneumonia / Jin Hongxica, Chu Jinghua, Mao Hong-xian e.a. // Abstr. Posters 7 th Int. Congr. Int. Org. f. Mycoplasmology ( IOM), Baden near Vienna Austria, june 2-9, 1988. – P. 138.
20. Gois M., Kursa F., Franz J. Influenze of international administration of hyper-immune pig serum, IgG and IgM on the development of infections in gnotobiotic piglets infected intranasally with Mycoplasma hyorhinis // Zbl. Vet. Med. Reine B. – 1974. – Bd. 21. – S. 176-187.
21. Goodwin R.F.W. Experiments on the transmissibility of enzootic pneumonia of pigs // Res / Vet. Sci. – 1972. – Vol. 13, N 3. – P. 257-261.
22. Goodwin R.F.W., Whittlestone P. Enzootic pneuminae of pigs: immunization attempts inoculating Mycoplasma suipneumoniae antigen by various routes and with differents // Brit. vet. J. – 1973. – Vol. 129, N 5. – P. 456-463.
23. Greenberg H., Helms C.M., Brunner H. Asymptomatic infection of adult volunteers with a temperature-sensitive mutants of Mycoplasma pneumonia // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1974. – Vol. 71, N 10. – P. 4015-4019.
24. Immunity in experimentally induced enzootic pneumoniae of pigs // R / F / W/ Goodwin, R.G. Godgson, P. Whittlestone, R.L. Woodhams // J. Hyg. Gam. – 1969. – Vol. 67. – N. 2. – P. 193-208.
25. Lam K.M., Switzer W.P. Mycoplasmal pneumonia of swine active and passive smmunizations // Am. J. Vet. Ras. – 1971. – Vol. 32, N 11. – P. 1737-1741.
26. Lannek N., Bornfors S. Immunity to enzootic pneumonia in pigs following recovery from the disease // Nord. Vet. Med. – 1957. – Vol. 9. – H. 2. – P. 91-98.
27. Lloyd L.C., Etheridge J.R. Production of arthritis by intravenous inoculation of Mycoplasma hyopneumoniae : tests on five strains // Res. Vet. Sci. – 1981. –Vol. 30, N. 1. – P. 124-126.
28. Passive transmission and active production of antibodies to Mycoplasma sui-pneumoniae and their significance in the development of macroscopic pneumonic lesions in fatteining swine / S. Durisic, A. Macsimovic, J. Visaskie.a. // Acta vet. / SFRJ. – Vol. 25, N 4. – P. 195-201.
29. Ross R.F. Immunization of swine agains Mycoplasma hyosynoviae // Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A. – 1978. – Bd. 241, N 2. – P. 246.
30. Ross R.F., Zimmermann B.J., Young T.F. Some characteristics of protective antigens in Mycoplasma hyopneumoniae // Yale J. Biol. Med. – 1983. – Vol. 56, N 5-6. – P. 919-920.
31. Ross R.F., Zimmermann-Ericson B.J., Yong T.F. Characteristics of protective activity of Mycoplasma hyopneumoniae vaccine // Am. J. Vet. Res. – 1984. – Vol. 45, N 10. – P. 1899-1905.
32. Schimmel D., Berdnik W.P. Isolierung und Charakterisierung von Acholep-lasma – und Mycoplasma – Mutanten // Arch. exper. Vet. Med. . – 1983 . – 37. – S. 475-480.
33. Slavik M.F., Schuller W., Switzer W. P. Immunization of swine with Mycop-lasma hyopneumoniae vaccines // Iowa State J. Ras. – 1979. – Vol. 53, N 4. – P. 297-300.
34. Steinberg P., Horswood R.L., Chanock R.M. Temperature-sensitive mutants of Mycoplasma pneumoniae. I. In vitro biologic properties // J. Infect. Dis. – 1969. –Vol. 120. – P. 217-224.
35. Temperature-sensitive mutants of Mycoplasma pneumoniae. 2. Response of hamsters / R. Steinberg, R.L. Horswood, H. Brunner, R.M. Chanock // J. Infect. Dis. – 1971. – Vol. 24. – P. 179-187.
36. Whittlestone P. Enzootic pneuminia of pigs / EPP// Adv. Vet. Sci. Comp. Med. – 1973. – Vol. 17. – P. 1-55.
37. Whittlestone P. Immunity to mycoplasma causing respiratory diseases in man and animals // Adv. Vet. Sci. Comp. Med. – 1976. – Vol. 20. – P. 277-307.