

УДК 619:616.988.74:636.4

© 2010

Бердник В.П., доктор ветеринарних наук,

Бердник І.Ю., кандидат біологічних наук

Полтавська державна аграрна академія

ПРИГОТУВАННЯ ТА ВИПРОБУВАННЯ ВАКЦИНИ ІЗ МІКОПЛАЗМ

ПОВІДОМЛЕННЯ 2. ВИПРОБУВАННЯ ВАКЦИНИ ІЗ МІКОПЛАЗМ В УМОВАХ ГОСПОДАРСТВА, НЕБЛАГОПОЛУЧНОГО ЩОДО МІКОПЛАЗМОЗУ

Рецензент – доктор ветеринарних наук А.Ф. Каришева

*Приведені результати випробування вакцини із температурочутливого мутанту М-60 *Mycoplasma (M.) arginini* та атенуйованих штамів Ч-2 *M. hyorhinis*, EP-29 *M. hyosynoviae*, J. *M. hyopneumoniae* та В-1 *Acholeplasma laidlawii* в умовах господарства, неблагополучного із мікоплазмозу. У щеплених поросят, порівняно із контрольними, були достовірно вищими показники живої маси тіла, збереженості й технологічності. Після контактного зараження у частини щеплених поросят легень мали ділянки серозно-катарального запалення, але вони були значно меншими, ніж у контролях.*

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

Постановка проблеми. Захворювання свиней на мікоплазмоз призводить до значних економічних збитків господарствам України та зарубіжжя. Його збудниками є *Mycoplasma (M.) arginini*, *M. hyorhinis*, *M. hyosynoviae*, *M. hyopneumoniae* і *Acholeplasma (A.) laidlawii* частіше всього у вигляді асоціацій між собою чи з вірусами (грипу, адено- й ентеровірусами тощо) та хламідіями. Інфекційний процес можуть ускладнювати бактерії (пастерели, бордетели, стрептококи, стафілококи тощо) [1, 3, 5, 7, 9].

В якості лікувально-профілактичних засобів при мікоплазмозі застосовують хіміопрепарати та антибіотики [10]. Однак за їх використання одержують лише частковий позитивний ефект [6]. Тому в останні 50-60 років ведуться пошуки засобів та розробка методів специфічної профілактики мікоплазмозів тварин і птахів [6].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. У двох лабораторних дослідках на 44 поросятах-сисунах була випробувана вакцина з температурочутливого мутанту (тч-мутанту) М-60 *M. arginini* та атенуйованих штамів Ч-2 *M. hyorhinis*, EP-29 *M. hyosynoviae*, J. *M. hyopneumoniae* і В-1 *A. laidlawii*, яку вводили поросяткам двічі в носову порожнину й один раз – у м'язи. У щеплених

поросят спостерігали такі ж відхилення клінічних, гематологічних та імунологічних показників, як і в заражених патогенними культурами мікоплазм. Проте у щеплених поросят вони проявлялися в слабкій формі [2, 4, 11, 12]. Випробувані зразки вакцини були імуногенними. В атенуйованих штамів виявили залишкову вірулентність, яка за час спостережень (22-36 діб після останнього введення вакцини) не мала суттєвого негативного впливу на ріст і розвиток поросят у лабораторних умовах [4, 11].

У наступному лабораторному досліді на 27 поросятах-сисунах (10 контрольних) випробувана вакцина, виготовлена із тих же штамів М-60, Ч-2, EP-29, J та В-1. Її вводили поросяткам одного помету в носову порожнину тричі з інтервалами 12 та 21 доба, другого помету – також, але в асоціації із вакциною проти паратифу. Поросяткам третього помету вакцину вводили в носову порожнину двічі з 21-добовим інтервалом, але в подвійній об'ємній дозі. Щеплення вакцини в носову порожнину викликало у поросят-сисунів перебудову клінічних, біохімічних та імунологічних показників як до генетично чужого фактора. Вакцина мала залишкову вірулентність, яка суттєво не позначилася на загальному стані та фізіологічних показниках організму поросят. Вакцинація не убезпечувала поросят від контрольного зараження епізоотичними культурами мікоплазм чи суспензією з уражених серозно-катаральним запаленням легень поросят, хворих на мікоплазмоз, проте зменшувала ступінь ураження їх легень запаленням у межах 6-26 та 1,5-2,5 разів відповідно. Одночасно різко зменшувалася частота виділення бактерій після контрольного зараження культурами мікоплазм (7,1%), порівняно із зараженими суспензією патологічного матеріалу (83,3 %).

Випробування 5-валентної вакцини з атенуйованих штамів молікутів у лабораторних умовах довело перспективність вибраного напряму розробки засобів і методів специфічної профілактики мікоплазмозу свиней [6].

Мета досліджень та методика їх проведення. Мета роботи – випробувати вакцину із п'яти видів молікутів на поросятах в умовах господарства, неблагополучного щодо мікоплазмозу.

Вакцину готували із (тч-мутанту) М-60 та атенуованих штамів ЕР-56щ М. arginini, Ч-2 і ЕР-55к М. hyorhinis, J М. hyopneumoniae, ЕР-29 М. hyosynoviae та ЕР-57к А. laidlawii за описаною методикою [6]. Її застосували згідно зі схемами, наведеними у табл. 1 та 2. Кожному поросяті ввели всього близько 1,24+0,14.10 x 9 КУО мікоплазм, а штама J – 2,0.10 x 6 КЗО (кольорозмінюючих одиниць). Контрольним поросяткам вводили рідке живильне середовище, в якому вирощували культури мікоплазм [3, 4]. Усіх поросят вакцинували також у плановому порядку проти паратифу, бешихи та чуми.

Через 40 діб після щеплення мікоплазменної вакцини поросят дослідів 1 поставили в станки, розміщені поруч із підсвинками, хворими на мікоплазмоз (контактне зараження). Через 72 доби

після цього (або 112 діб після третього щеплення вакцини) забили 4 щеплених і 3 контрольних поросят, які мали кашель і відстали в рості.

Для поросят дослідів 2 вакцину готували із тих же штамів мікоплазм, що й дослідів 1, додавши до них лише один штам П5в М. hyorhinis, який виділили із легень поросят дослідів 1.

Поросят груп 1-3 дослідів 2 заражали мікоплазмами контактним шляхом через 40 діб, а груп 4-7 – через 29 діб після останнього щеплення вакцини. Їх помістили в станки поряд із хворими на мікоплазмоз підсвинками.

Одержаний цифровий матеріал обробили із застосуванням статистичних методів [8].

Результати досліджень. За час утримання на репродукторній фермі у частини контрольних поросят дослідів 1 спостерігали пронос, а на фермі дорощування – кашель і періодичне підвищення температури тіла до 40,2-41,0 °С. Аналогічні ознаки були й з-поміж вакцинованих, але на 30,0-50,0% випадків менше.

1. Схема дослідів 1

Варіанти вакцини чи плацебо	Група №	Кількість поросят	Спосіб введення	Кратність введення і дози вакцини чи плацебо	Загальна доза мікоплазм, КУО + КЗО
Суміш культур мікоплазм	1	146	нп	3 інтервалом 12 діб і 21 добу по 1 мл, 3 та 5 мл	1,14.10 x 9 + 2,0.10 x 6
Контролі: К-1 – рідке живильне середовище	2	7	нп	3 інтервалом 12 діб і 21 добу по 1мл, 3 та 5 мл	-
2. К-2	3	156	-	-	-

Примітка: Поросяткам щеплювали вакцину із 13-19-добового віку.

2. Схема дослідів 2

Варіанти вакцини чи плацебо	Групи №	Кількість поросят	Спосіб введення	Кратність введення і дози вакцини чи плацебо	Загальна доза мікоплазм, КУО
Суміш культур мікоплазм	1	28	нп вм	3 інтервалом 7 та 38 діб по 3 мл, 5 та 5 мл	2,12+0,2.10 x 9
Суміш культур мікоплазм	2	31	нп вм	3 інтервалом 14 діб та 31 доба по 3 мл, 5 та 5 мл	Також
Рідке живильне середовище для мікоплазм (контроль 1)	3	23	нп вм	3 інтервалом 14 діб та 31 доба по 4 та 6 мл	-
Суміш культур мікоплазм	4	29	нп вм	3 інтервалом 7 та 49 діб по 3 мл, 5 та 5 мл	1,24+0,14.10 x 9
Суміш культур мікоплазм	5	26	нп вм	3 інтервалом 7 та 49 діб по 3 мл, 5 та 5 мл	Також
Суміш культур мікоплазм	6	26	нп вм	3 інтервалом 30 та 26 діб по 3 мл, 5 та 5 мл	Також
Рідке живильне середовище для мікоплазм (контроль 2)	7	24	нп вм	3 інтервалом 30 та 26 діб по 3 мл, 5 та 5 мл	-

Примітка: Поросяткам груп 1-3 щепили вакцину із 31-32-добового віку, а груп 4-7 – 19-20-добового.

Загальний стан поросят обох дослідів оцінювали з урахуванням клінічного стану та показників збереження, ступеня розвитку та живої маси тіла й відповідності їх певним етапам технологічного процесу господарства, як це наведено в табл. 3.

Із даних табл. 3 видно, що за 5 місяців досліду 1 загинуло 18 (12,3%) поросят, щеплених вакциною, і 31 (19,9%) – контрольне поросся, переважно через захворювання органів травлення. Середня жива маса тіла відлученого в двомісячному віці щепленого поросяти була на 1 кг більшою, ніж контрольного; і в кінці періоду дорощування – на 4,9 кг. Отже, за 100 днів щеплене поросся мало живу масу тіла в середньому на 3,9 кг більшу, ніж контрольне. Її вартість при ціні 30 грн/ кг становить 117 гривень.

У табл. 4 подано результати гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень поросят. Як видно із даних табл. 4, після першого щеплення вакцини у поросят спостерігали достовірне зниження рівнів ШОЕ за 1 годину, еритроцитів і гемоглобіну у крові й збільшення ФЧ нейтрофілів. Після другого введення вакцини достовірно збільшилася кількість загального білку в сироватці крові, гемоглобіну та еритроцитів у крові, а також лейкоцитів за рахунок збільшення рівнів еозинофілів, сегментоядерних нейтрофілів та лімфоцитів і, навпаки, зменшилася ФЧ нейтрофілів. У поросят, яким щепили вакцину третій раз, спостерігали збільшення ШОЕ за 1 та 24 години і кількості лейкоцитів за рахунок еозинофілів, паличкоядерних

нейтрофілів та лімфоцитів.

У всіх 4 щеплених і 3 контрольних поросят, яких забили через 112 днів після останнього введення вакцини, спостерігали серозно-катаральне запалення легень. Загальна площа уражень запаленням поверхні легень контрольних поросят складала $49,8 \pm 1,15\%$, а щеплених – $35,1 \pm 4,17\%$ ($P < 0,05$). Отже, у щеплених поросят, порівняно з контрольними, спостерігалася тенденція до зменшення ступеня ураження легень запаленням.

При мікробіологічному дослідженні проб легень названих 7 поросят досліду 1 одержали наступні результати: від 1 із 4 щеплених поросят виділено культури *M. hyorhinis* та *Str. pneumoniae*, іншого та 2 контрольних – *Str. pneumoniae* і третього контрольного поросяти – *Pasteurella multocida*.

Гомологічні КЗ-антитіла виявили у сироватках крові 7 (100,0%) і аглютиніни 5 (71,4%) досліджених поросят після 2-3 щеплень вакцини в титрах 1:5-1:40 і 1:5 відповідно. Аналогічні результати одержали й при дослідженні 7 поросят із контрольної групи.

Поросят досліду 2 досліджували так, як і досліду 1. У частини з них спостерігали клінічні ознаки захворювань органів травлення, переважно після відлучення від свиноматки чи переведення в інше приміщення. Через 3-4 тижні після контакту з хворими на мікоплазмоз у 30-60% контрольних поросят, а через 8-10 тижнів і у деяких щеплених мікоплазменною вакциною спостерігали кашель.

3. Показники збереження, розвитку та живої маси тіла поросят досліду 1

Етапи технологічного процесу	Вік поросят, днів	Щеплені поросята			Контрольні поросята		
		голів	%	середня маса тіла, кг	голів	%	середня маса тіла, кг
Поросята-сисуні, всього:	13-19	146	100,0	3,80	156	100,0	3,70
- відстало в рості		21	14,4	2,90	21	13,5	2,80
- загинуло		10	6,8	3,20			2,60
Відлучено, всього:	61	136	93,2	16,5	135	86,5	15,7
- відстало в рості		10	7,5	9,5	18	13,3	9,7
- загинуло		2	1,5	10,5	3	2,2	10,2
Зважування	69-75	134	91,8	17,30	132	84,6	16,10
Дорощування	86-92	134	91,8	22,10	132	84,6	20,90
- відстало в рості		11	8,6	21,00	21	15,9	20,00
- загинуло		6	11,1	10,0	7	5,3	10,20
Зважування	161-167	128	87,7	34,80	125	80,1	29,9
Відгодівля		114	78,1	36,50	82	52,6	33,50
Залишилося на дорощуванні		14	9,6	21,0	43	27,6	23,03
Загинуло, всього		18	12,3	6,28	31	19,9	5,05

4. Деякі гематологічні, біохімічні та імунологічні показники поросят дослідів 1, яким щепили мікоплазменну вакцину в умовах господарства (М+-м, n 7)

Показники	Групи поросят	До щеплення	Після щеплення вакцини		
			першого	другого	третього
ШОЕ, мм/год.	щ	1,86 ± 0,40	3,71 ± 0,47 [”]	1,28 ± 0,18	3,71 ± 0,84*
	к	2,28 ± 0,47	6,71 ± 1,15	1,71 ± 0,26	11,30 ± 0,97
ШОЕ, мм/добу	щ	24,60 ± 3,55	35,60 ± 4,46	40,86 ± 2,65	30,60 ± 2,39*
	к	31,00 ± 6,00	36,60 ± 1,43	33,70 ± 3,80	45,70 ± 2,04
Загальний білок сироватки крові, %	щ	5,40 ± 0,14	5,62 ± 0,15	5,91 ± 0,13 ⁺	6,12 ± 0,22
	к	5,13 ± 0,11	5,39 ± 0,09	5,49 ± 0,10	6,06 ± 0,09
Гемоглобін, г %	щ	8,94 ± 0,28	9,60 ± 0,24 ⁺	10,34 ± 0,19 ⁺	10,48 ± 0,16
	к	9,11 ± 0,33	10,80 ± 0,44	9,66 ± 0,20	11,07 ± 0,31
Еритроцити, млн./мкл	щ	4,85 ± 0,23	4,66 ± 0,31 ⁺	6,42 ± 0,37 ⁺	5,67 ± 0,30
	к	4,81 ± 0,17	5,52 ± 0,22	5,51 ± 0,11	5,57 ± 0,20
Лейкоцити, тис./мкл	щ	8,83 ± 1,05	19,50 ± 2,00	20,30 ± 1,41*	37,60 ± 4,75 ⁺
	к	7,74 ± 0,45	15,90 ± 1,62	11,20 ± 1,16	23,37 ± 1,80
Лейкоцитарна формула, клітин/мкл:					
Базофіли	щ	19,8 ± 12,9	-	-	-
	к	-	-	-	-
Еозинофіли	щ	139,9 ± 22,6	490,6 ± 191,5	626,1 ± 175,9 ⁺	4854,7 ± 1310,7 [”]
	к	60,0 ± 31,7	165,3 ± 62,3	217,4 ± 64,6	705,2 ± 267,1
Нейтрофіли:					
- юні	щ	254,7 ± 35,3	601,0 ± 204,6	371,1 ± 172,6	613,0 ± 185,0
	к	286,6 ± 32,8	679,7 ± 125,1	210,4 ± 68,2	589,9 ± 124,3
- паличкоядерні	щ	512,1 ± 68,1	917,7 ± 169,4	739,9 ± 283,4	2252,1 ± 390,4 ⁺
	к	512,4 ± 93,8	1004,4 ± 173,3	496,9 ± 154,6	980,3 ± 182,3
- сегментоядерні	щ	2767,9 ± 831,1	5478,6 ± 376,0	6270,9 ± 767,1 [”]	7745,9 ± 1696,3
	к	2421,5 ± 267,6	5426,9 ± 706,3	3251,3 ± 514,8	5675,1 ± 577,8
Лімфоцити	щ	5026,3 ± 501,8	11591,5 ± 1566,4	12291,9 ± 1564,7 [”]	22418,2 ± 2910,4 ⁺
	к	4448,0 ± 649,9	8591,4 ± 1075,9	7024,0 ± 627,8	15304,9 ± 1184,7
Моноцити	щ	107,8 ± 69,8	-	-	370,3 ± 139,7
	к	-	46,3 ± 30,1	-	115,9 ± 86,3
ФА нейтрофілів, %	щ	34,30 ± 4,18	61,70 ± 4,08	75,40 ± 4,05	67,40 ± 6,50
	к	40,60 ± 4,30	57,10 ± 5,70	70,90 ± 3,90	76,60 ± 6,30
ФЧ нейтрофілів	щ	1,71 ± 0,44	3,97 ± 0,34 [”]	4,52 ± 0,48 ⁺	5,41 ± 0,88
	к	2,60 ± 0,50	2,39 ± 0,20	6,55 ± 0,81	7,63 ± 5,41

Примітки: 1. Скорочення: щ – щеплені, к – контрольні поросята.

2. У цифри зі знаком + P < 0,05, ” P < 0,01, * P < 0/001, без знаку – P > 0,05.

За 221 добу дослідів 2 загинуло 21 (11,2%) порося, у тому числі було 15 (10,7%) із 140 щеплених і 6 (12,9%) із 47 контрольних поросят. Загибель становила: серед щеплених – у межах 3,6 -6,9 % поросят у групах 1 та 4 і 9,7-9,2% – у групах 2, 5 і 6 та 12,5-13,0 % поросят контрольних груп. Крім того, 19 поросят мали нижчі технологічних маси тіл, тому вони залишилися на фермі дорощування, в т.ч. із контрольних груп 3 та 7-6 та 7 відповідно.

Від усіх поросят дослідів 1 та 2, які загинули і мали серозно-катаральну пневмонію, ізолювали мікоплазми переважно в асоціаціях зі стафілококами, диплококами, ешеріхіями тощо. Статистично достовірними (<0,001), порівняно з контролем, були більші прирости середньої маси тіл поросят груп 1, 4 і 6 (на 2,78 кг, 3,30 і 2,62 кг відповідно) за час дослідів 2 та кількості поросят із груп 1 і 4, переведених на відгодівлю в технологічні терміни.

5. Показники збереження, розвитку та живої маси тіла поросят дослідів 2

Етапи технології виробництва	Групи свиней, №	Вік поросят, діб	Голів		Середня маса тіла, кг
			абс. число	%	
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	1	31-32 162-189	28 25* 1	100,0 89,3 3,6	5,52±0,12 35,08±0,19*
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	2	31-32 162-189	31 26 3	100,0 83,9 9,7	5,65± 0,14 34,18± 0,82
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	3 контроль	31-32 162-189	23 14 3	100,0 60,9 13,0	5,78±0,29 32,30±0,21
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	4	19-20 162-189	29 26* 2	100,0 89,6 6,9	3,83±0,03 34,20±0,43*
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	5	19-20 162-189	26 20 5	100,0 76,9 19,2	3,96±0,15 32,45±0,74
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	6	19-20 162-189	26 22 4	100,0 84,6 15,4	3,92± 0,09 33,52±0,15*
Поросята-сисуні Відгодівля Загиноюло	7 контроль	19-20 162-189	24 14 3	100,0 58,3 12,5	4,36±0,25 30,9±0,64
Всього загинуло за 221добу	щеплені контрольні	- -	15 6	10,7 12,9	- -

Примітки: 1. У цифри зі знаком + $P < 0,05$, " $P < 0,01$, * $P < 0,001$, без знаку – $P > 0,05$.

Таким чином, загальний стан і технологічні показники були найкращими у щеплених поросят груп 1 та 4.

Висновки: 1. У щеплених поросят дослідів 1, порівняно з контрольними, були більшими середня маса тіла за 100 діб дорошування, збереженість і технологічність показників розвитку на 3,9 кг, 7,6 та 35,1% відповідно.

2. Після 2-3 щеплень вакцини із тч-мутанту та атенуованих штамів молекулів у носову порожнину у поросят дослідів 1 спостерігали ознаки підвищеної активності захисних механізмів – статистично достовірне збільшення ШОЕ, кількості загального білку в сироватці крові, еритроцитів, гемоглобіну та лейкоцитів у периферійній крові за рахунок еозинофілів, лімфоцитів, сегментоядерних (друге щеплення) та паличкоядерних (третє щеплення) нейтрофілів, продукцію КЗ-антитіл та аглютининів до титрів 1: 5 – 1: 40.

3. У поросят, які кашляли під час зараження шляхом контакту із хворими на мікоплазмоз,

упродовж 40-72 діб після останнього щеплення вакцини і були забиті з діагностичною метою, виявили серозно-катаральне запалення легень із ураженням 35,10 ± 4,17% їх поверхні у щеплених проти 49,80 ± 1,15% – у контрольних.

4. У досліді 2 із 5 випробуваних схем кращі результати одержали при щепленні вакцини із 31-32-добового віку двічі із 7-добовим інтервалом у носову порожнину і один раз через 38 діб – м'язево (група 1) та із 19-20-добового за аналогічною схемою, але з інтервалом 7 та 49 діб (група 4). Порівняно з контрольними, поросята групи 1 мали достовірно вищі показники середньої живої маси тіла, збереженості й технологічності на 2,78 кг, 9,4 та 28,4 %, а групи 4 – на 3,3 кг, 5,6 та 31,3% відповідно. Загальна доза становила 1,2-2,2.10 x 9 КОЕ мікоплазм.

5. Одержані результати свідчать про перспективність вибраного напряму наукових досліджень.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. *Андросик Н.Н.* Профилактика пневмоний свиней. – Мн.: Ураджай, 1989. – 160 с.
2. Бердник В.П. Некоторые биологические свойства микоплазм свиней // Дисс... канд. вет. наук. – М., 1973. – 215 с.
3. *Бердник В.П., Настенко В.О., Душук Р.В.* [и др.] Методические указания по диагностике, профилактике и мерам борьбы с микоплазмозом свиней. – М., 1988. – 63 с.
4. *Бердник В.П.* Микоплазмоз свиней // Дисс... докт. вет. наук. – М., 1991. – 616 с.
5. *Бердник В.П.* Патогенність мікоплазм свиней // Вісник ПДАА. – 2004, № 3. – С. 38-43.
6. *Бердник В.П.* Приготування та випробування вакцини із мікоплазм. Повідомлення 1. Виготовлення вакцини із атенуєваних штамів п'яти видів молюсків та випробування її на поросятах-сисунках в лабораторних умовах // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2010, №3. – С. 110-118.
7. *Душук Р.В.* Респираторные болезни свиней. – М.: Колос, 1982. – 272 с.
8. *Лакин Г.Ф.* Биометрия: Учебн. пособие для биол. спец. вузов. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
9. *Паутов Ю.Н.* Этиологическое значение микоплазм и стафилококков при энзоотической пневмонии свиней // Дисс... канд. вет. наук. – Усть-Каменогорск, 1989. – 142 с.
10. *Скворцов В.Н.* Химиотерапия и химиопрофилактика дизентерии и пневмонии свиней // Автореф. дисс... докт. вет. наук. – М., 2002. – 53 с.
11. *Собко А.И., Настенко В.Д., Бердник В.П.* [и др.]. Характеристика возбудителей и клинико-эпизоотологические особенности микоплазменных бронхопневмоний свиней // Arch. exper. Vet.med. – 1986. – Bd. 40, N. 1. – P. 1-11.
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. – N. 5 – P. 637-655.