

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

УХОВСЬКА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА

УДК 636.09:[616.34:579.842.1/.2]:636.4:615.371

**ОСОБЛИВОСТІ ШЛУНКОВО-КИШКОВИХ БАКТЕРІОЗІВ СВИНЕЙ
ТА РОЗРОБКА ЗАСОБІВ ЇХ СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія,
епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України

Науковий керівник доктор ветеринарних наук, професор
Ничик Сергій Анатолійович,
Інститут ветеринарної медицини НААН,
директор

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Кассіч Володимир Юрійович,
Сумський національний аграрний університет,
завідувач кафедри епізоотології
та паразитології

кандидат ветеринарних наук, доцент
Козловська Ганна Володимирівна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
доцент кафедри мікробіології,
вірусології та біотехнології

Захист відбудеться «19» травня 2016 року о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Генерала Родимцева, 19, навчальний корпус № 1, кімната 97

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розісланий «14» квітня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Н. Г. Грушанська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За умов розширення торгівельно-економічних зв'язків, збільшення транспортних торгових потоків у сучасному світі, пов'язаних із виробництвом і реалізацією тваринницької продукції та імпортом тварин, змінюється і епізоотична ситуація щодо багатьох інфекційних хвороб та постають проблеми розповсюдження біологічних загроз – здебільшого захворювань інфекційної етіології (Ничик С. А., 2013). На організм тварин постійно впливає комплекс причин, які виконують роль стрес-факторів, через порушення технології вирощування, способів утримання, догляду і годівлі тварин, що призводить до зниження неспецифічної резистентності, напруженості імунітету, підвищення реактивності організму та розвитку бактеріозів у свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту (Морару Г. С., 2004; Риженко В. П., 2006, 2009, 2012; Маслянюк Р. П., 2010).

Питаннями з вивчення впливу асоційованих патогенів на організм тварин займалися багато учених (Прискока В. А., 1992; Руденко П. А., 2000; Доценко В. А., 2005; Золотухин Н. С., 2006; Панасюк С. Д., 2007; Ардатская М. Д., 2009). Проте, за сучасних соціально-економічних умов проблеми асоційованих інфекцій стали ще більш актуальними.

Бактеріологічний моніторинг біологічного матеріалу від загиблих тварин за останні роки засвідчив важливу роль асоційованої мікрофлори у патогенезі бактеріозів тварин, оскільки за досліджень переважно виділяють 2–3 і більшу кількість патогенів у таких асоціаціях і лише частково – ізоляти одного збудника (Паулискас В. Ю., 1990; Прискока В. А., 2005; Семенов А. В., 2007; Кліменко С. С., 2008; Риженко В. П., 2009).

Лікування асоційованих бактеріальних інфекцій із застосуванням антибіотикотерапії для тварин, за даними науковців, є низькоефективним, оскільки чітко проявляється висока резистентність збудників до значної кількості антибіотичних препаратів, особливо за ускладненого їх перебігу (Лопатин С. В., 2006; Риженко Г. Ф., 2009; Марчук О. О., 2010; Риженко В. П., 2013).

Тому, виникає нагальна потреба розроблення нових асоційованих вакцин для захисту тварин проти найпоширеніших бактеріозів. Перевага асоційованих вакцинних препаратів полягає у тому, що вони здатні створювати напружений імунітет у організмі щеплених тварин одночасно проти кількох видів патогенних збудників, що поліпшить і стабілізує епізоотичну ситуацію щодо низки інфекційних захворювань та їх ускладненого перебігу (Риженко В. П., 2007, 2008; Рыбалко В. П., 2008; Березовський А. В., 2009). Вирішенню цих актуальних питань сьогодні і присвячена дисертаційна робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась як самостійні фрагменти планових науково-дослідних робіт лабораторії анаеробних інфекцій з науково-дослідним референс-центром з питань вивчення та профілактики анаеробних інфекцій Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України: «Вивчити біологічні властивості та біоценотичні зв'язки збудника,

закономірності перебігу фузобактеріозу тварин в Україні, обґрунтувати інтегральну систему захисту» (номер державної реєстрації 0106U000386, 2006–2010 рр.); «Вивчити епізоотологічні особливості змішаних бактеріозів свиней та розробити ефективні засоби їх специфічної профілактики» (номер державної реєстрації 0111U000477, 2011–2013 рр.); «Вивчити біологічні, молекулярно-генетичні і еко-географічні властивості збудників зоонозних анаеробних інфекцій та обґрунтувати створення мультикомпонентних профілактичних препаратів» (номер державної реєстрації 0111U000476, 2011–2015 рр.).

Мета дослідження. Мета дослідження – вивчити поширення бактеріозів свиней, пов'язаних із ураженням шлунково-кишкового тракту, в господарствах України, визначити найбільш поширені мікробні асоціації і їх видовий спектр за ускладненого перебігу бактеріальних захворювань та розробити ефективні специфічні засоби захисту свиней від асоційованих інфекцій.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

- провести моніторинг бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, в господарствах України упродовж 2010–2015 рр., виявити найбільш поширені мікробні асоціації та визначити їх видовий спектр;
- визначити чутливість до антибіотиків ізолятів *S. perfringens*, *E. coli* та асоціацій мікроорганізмів за їх участю;
- провести перевірку штамів *S. perfringens* і *E. coli* на відповідність типовим властивостям та відібрати перспективні штами для конструювання асоційованої вакцини проти найпоширеніших бактеріозів свиней;
- провести конструювання експериментального зразка асоційованої вакцини із відібраних штамів *S. perfringens* і *E. coli*;
- провести лабораторний контроль якості виготовленого експериментального зразка асоційованої вакцини проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин за зовнішнім виглядом, рівнем рН, залишковою кількістю вільного формальдегіду, на відсутність бактеріальної та грибової контамінації, повноту інактивації, нетоксичність, нешкідливість, антигенну та імуногенну активність;
- провести доклінічні випробування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на лабораторних тваринах з вивченням в організмі щеплених кролів взаємодії антигенів, які входять до її складу, з клініко-гематологічними обстеженнями, визначенням показників специфічного імунітету, дослідженнями показників природного клітинного захисту організму, вивченням показників неспецифічного гуморального захисту організму, визначенням економічної ефективності після застосування дослідного зразка асоційованої вакцини на виробництві.

Об'єкт досліджень – бактеріози, змішані бактеріози, спричинені *S. perfringens* і *E. coli*; мікробні асоціації.

Предмет досліджень – білі миші, мурчаки, кролі, свині, дослідний зразок асоційованої вакцини «Вельшиколісан».

Методи дослідження: клінічні, гематологічні, біохімічні, бактеріологічні, серологічні, імунологічні, варіаційно-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. За результатами бактеріологічного моніторингу та на підставі власних досліджень одержано нові дані щодо найбільш поширених бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, в господарствах різних регіонів України упродовж 2010–2015 рр., визначено основний видовий спектр мікроорганізмів в асоціаціях за перебігу бактеріозів свиней, ускладнених іншими патогенами.

Уперше розроблено експериментальний зразок асоційованої інактивованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин. Одержано патент України на корисну модель № 75304 «Вакцина «Вельшиколісан» асоційована інактивована концентрована проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин» від 26.11.2012 р.

Досліджено антигенні властивості експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на щеплених кролях та встановлено рівень зростання титрів специфічних антитіл до антигенів *C. perfringens* тип В і *E. coli* у 5,0 разів, до антигену *C. perfringens* тип С – у 4,0 рази ($p < 0,001$). Імуногенна ефективність вакцинного препарату забезпечувала збереженість щеплених білих мишей у середньому на 83,3 % за одночасної загибелі 90,0 % нещепленого поголів'я.

Уперше встановлено, що застосування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» активізує природні клітинні фактори захисту і гуморальну ланку імунітету із вірогідним зростанням показників фагоцитарної активності до антигенів *C. perfringens* типів В, С і *E. coli*; показників інтенсивності фагоцитозу і опсонічних індексів; рівня титрів специфічних аглютининів до *C. perfringens* типів В, С та *E. coli*; показників γ -глобулінової фракції білка, концентрації загальних імуноглобулінів, рівня ЦК та титрів гетерофільних аглютининів.

Доведено, що дослідний зразок вакцинного препарату забезпечує формування специфічного імунітету, підвищує показники природної резистентності у щеплених тварин, сприяє зниженню захворюваності, сприяє покращенню економічних показників після застосування вакцини у господарствах.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі результатів проведеного бактеріологічного моніторингу та власних досліджень сконструйовано експериментальний зразок асоційованої інактивованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин.

На вакцинний препарат розроблено наступну нормативну документацію: ТУ У 24.4 – 05510830-002: 2014 (затверджено 11.02.2014 р.); «Настанова щодо застосування вакцини асоційованої інактивованої концентрованої проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин «Вельшиколісан» (затверджена 11.02.2014 р.); «Інструкція з виготовлення та контролю вакцини асоційованої інактивованої

проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин»; листівка-вкладка для згаданої вакцини.

Експериментальний зразок асоційованої інактивованої вакцини «Вельшиколісан» є ефективним профілактичним засобом та з успіхом застосовується в господарствах України згідно з настановою.

Одержані результати досліджень увійшли до методичних рекомендацій: «Вивчення чутливості анаеробних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (*затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 4 від 21 грудня 2011 р.*); «Відбір біологічного матеріалу для лабораторних досліджень на анаеробні інфекції» (*затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 1 від 21 грудня 2011 р.*).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно здійснено патентний пошук, проведено аналіз літературних джерел. За консультаціями наукового керівника автором дисертаційної роботи було визначено напрями, проведено експериментальні дослідження та здійснено статистичну обробку одержаних результатів.

Проведення бактеріологічного моніторингу щодо виявлення найпоширеніших бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, та їх асоційованого перебігу, визначення основного видового спектру патогенних асоціантів, перевірка на відповідність типовим властивостям збудників та відбір перспективних штамів, участь у конструюванні експериментального зразка асоційованої вакцини проти найпоширеніших бактеріозів свиней, проведення лабораторного контролю якості дослідної вакцини та доклінічних випробувань на кролях з вивченням показників клітинної і гуморальної ланок імунітету та показників природного захисту тварин після застосування дослідного зразка препарату, визначення економічної ефективності було виконано дисертантом за участю наукового керівника доктора ветеринарних наук, професора С. А. Ничика.

За аналізом експериментальних даних автором роботи було самостійно сформульовано висновки та пропозиції виробництву.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень доповідались, обговорювались та отримали загальне схвалення на засіданнях Вченої ради Інституту ветеринарної медицини НААН (2009–2012 рр.); X Міжнародній конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів «Ветеринарна медицина та якість і безпека продукції тваринництва (м. Київ, 16–17 березня 2011 р.); Міжнародній науковій конференції «Біоресурси планети та біобезпека навколишнього середовища: проблеми та перспективи» (м. Київ, 2013 р.); ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting (Washington, DC., 2014, January 27–29).

Публікації. Основні положення дисертації викладено у 15 наукових працях, з яких 9 статей у наукових фахових виданнях України, стаття у науковому виданні іншої держави, 2 тези наукових доповідей, патент на корисну модель, 2 методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 132 сторінках комп'ютерного тексту. Складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, власних досліджень, узагальнення результатів досліджень, висновків і пропозицій для практики, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 20 таблицями, 20 рисунками, містить 14 додатків. У списку літератури зазначено 267 джерел, із них 96 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконана упродовж 2009–2015 рр. у лабораторії анаеробних інфекцій з науково-дослідним референс-центром з вивчення і розробки засобів профілактики анаеробних інфекцій Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України (ІВМ НААН), віварії ІВМ НААН, у господарствах Чернігівської області: СТОВ «Надія», Бахмачького району, господарстві ПСП «Рекорд», Корюківського району; Черкаської області: корпорації «Украгротех», Христинівського району.

За проведення досліджень в умовах лабораторії було використано білих мишей інбредних ліній та їх гібриди першого покоління у кількості близько 1500 гол.; кролів, масою 2,0–2,5 кг в кількості 40 гол.; мурчаків, масою 0,30–0,35 кг в кількості 12 гол. Для проведення експериментальних досліджень з вивчення впливу експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на стан імунобіологічної реактивності організму, показники специфічного імунітету у щеплених тварин, досліджуваних на базі лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ та в умовах господарств, було використано свиней віком 2–4 міс. в кількості 40 гол. За період виконання дисертаційної роботи у свинарських господарствах України в контрольованих епізоотичних дослідах імунізовано дослідним зразком асоційованої вакцини близько 1700 гол. свиней.

У період проведення експериментів тварини були клінічно здорові, господарства – благополучними щодо інфекційних та паразитарних хвороб. Усі втручання та забій лабораторних тварин проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1995) та ухвали першого наукового конгресу з біоетики (Київ, 2001). Зразки крові для досліджень відбирали з дотриманням біоетичних вимог стосовно тварин, що відповідають Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» від 23.03.2006 р.

Упродовж періоду експерименту для вивчення стану імунобіологічної реактивності організму та показників специфічного захисту тварин від найпоширеніших бактеріозів свиней, було використано експериментальний зразок асоційованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин, серія № 1, контроль № 1.

Експериментальні дослідження проведено в 5 етапів (рис. 1).



Рис.1. Загальна схема проведення експериментальних робіт

I етап було присвячено бактеріологічному моніторингу бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, на території України за результатами офіційної звітності державних лабораторій ветеринарної медицини упродовж 2010–2015 рр. та результатами бактеріологічних досліджень лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН. За аналізом одержаних результатів досліджень було визначено основних збудників, які займають провідне місце у інфекційній патології свиней, та видовий спектр мікробних асоціацій. Було намічено основні пріоритети щодо розроблення засобів специфічного захисту проти бактеріозів свиней та їхнього ускладненого перебігу. На цьому ж етапі були проведені дослідження з вивчення чутливості до 34 різновидностей антибіотиків ізолятів *C. perfringens* і *E. coli* та мікробних асоціацій за їх участю.

На **II етапі** було проведено дослідження з вивчення відповідності типовим властивостям збудників перфрингіозів та ешерихіозу за морфологічними, культуральними, біохімічними, серологічними, біологічними методами досліджень та підібрано їхні перспективні штами для конструювання експериментального зразка асоційованої вакцини проти асоційованих інфекцій у свиней.

На **III етапі** було сконструювано експериментальний зразок асоційованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин.

На **IV етапі** було проведено контроль якості виготовленого дослідного зразка асоційованого вакцинного препарату за зовнішнім виглядом, рівнем рН, залишковою кількістю вільного формальдегіду, на відсутність контамінації живими бактеріями та мікроскопічними грибами, на нетоксичність та нешкідливість. На даному етапі було досліджено антигенні властивості вакцинного препарату на щеплених кролях та імуногенну ефективність вакцини на інбредних білих мишах, попередньо щеплених та надалі заражених підтитрованими мінімальними летальними дозами (DLM) штамів відповідних збудників.

V етап був присвячений доклінічним дослідженням з вивчення впливу експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на організм лабораторних тварин, в якості яких використали кролів.

Гематологічні дослідження з метою визначення загальної кількості еритроцитів, лейкоцитів проводили пробірковим методом; вмісту гемоглобіну – гемоглобінціанідовим методом; диференціації клітин крові із визначенням лейкограми – за загальноприйнятими методиками за описом В. І. Левченка (2002).

Концентрацію загальних імуноглобулінів та білкових фракцій сироваток крові досліджували турбіметричним методом за описом В. І. Левченка (2004).

Визначення титрів антитіл, специфічних до *C. perfringens* типів В і С та *E. coli*, за постановки в РА проводили за загальноприйнятими методиками за описом В. М. Івченка (1997).

Вміст гетероаглютининів визначали за величиною їх титрів за постановки РГА за методикою Пауля-Буннеля за описом І. Я. Коцюмбаса (2006).

Визначення вмісту середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів (ЦК) у сироватці крові проводили за загальноприйнятою методикою Ю. Г. Гриневича і М. І. Алферова (1989) шляхом селективної преципітації комплексів антиген+антитіло в 3,75 % розчині поліетиленгліколю-6000 та фотометрією на КФК-2 при зеленому світлофільтрі, довжині хвилі 540 нм за описом А. М. Нікітенка (2004).

Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили із використанням програми «Excel-97» для Windows, із обчисленням середніх значень (M), середньоквадратичних відхилень (m) і порівняльних середніх значень із використанням параметричного t -критерію Стьюдента із урахуванням порогу вірогідності від $p < 0,05$ до $p < 0,01$ за методикою І. А. Ойвина (1960).

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Моніторинг бактеріозів свиней у господарствах України упродовж 2010–2015 рр., видовий спектр збудників за їх асоціативного перебігу. Моніторинг бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, за використанням даних офіційної статистики та власних даних за бактеріологічних досліджень показав, що за останні роки серед поголів'я свиней на території держави зареєстровано більше 16 захворювань, викликаних аеробними та анаеробними збудниками. Найбільш поширеними бактеріальними хворобами свиней в Україні є колібактеріоз, набрякова хвороба, дизентерія, бешиха, а з анаеробних інфекцій – інфекційна ентеротоксемія. Займаючи провідне місце у інфекційній патології свиней, вони досить часто ускладнюються асоційованими мікроорганізмами. За визначення видового спектру основних асоціацій мікроорганізмів за участі збудників *C. perfringens* та *E. coli*, найчастіше виділяли *P. multocida*, *Pr. vulgaris*, *C. septicum*, *C. oedematiens*, *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *St. zoepidemicus*, *Ac. pleuropneumoniae*, *F. necrophorum*, *D. lanceolatus*, що вказує на необхідність створення асоційованих вакцин для специфічної профілактики поголів'я свиней.

Вивчення чутливості ізолятів *C. perfringens* і *E. coli* та мікробних асоціацій за їх участю до антибіотиків. Спектр антибіотиків з ефективною знешкоджувальною дією щодо ізолятів *C. perfringens* і *E. coli* та їхніх асоціацій досить обмежений. Із 34 різновидностей застосованих антибіотиків бактерицидну активність на штами *C. perfringens* проявили 11,8 та *E. coli* – 20,6 % препаратів. Антибіотики, які згубно діяли на *C. perfringens* та асоційовані з ним інші патогени, представлено групою фторхінолонів, зокрема, ципрофлоксацином і норфлоксацином; цефалоспориною групою – цефтазідимом; групою карбопенемів – імпенемом. Мікробні асоціації за участю *E. coli* проявляли більшу стійкість до антибіотиків, оскільки, на відміну від асоціацій за участю перфрингіозних збудників, не проявляли чутливості до сизоміцину, амікацину, цефтриаксону та частково до імпенему, що

підтверджувало їх симбіотичну протидію несприятливим факторам зовнішнього середовища.

Найвищий рівень бактерицидної дії був притаманний антибіотику норфлуксацину – представнику групи фторхінолонів, оскільки він згубно діяв на ізоляти *C. perfringens* і *E. coli* та всі мікробіоценози за їх участю.

Резистентність збудників перфрингіозів, ешерихіозу та асоційованих із ними патогенів підтверджують складність їх знешкодження та підкреслюють актуальність питань, що стосуються розроблення багатокomпонентних специфічних засобів захисту для свиней від бактеріозів.

Перевірка культур *C. perfringens* і *E. coli* на відповідність типовим властивостям та підбір перспективних штамів для конструювання асоційованої вакцини. Культури *C. perfringens* типів А, В, С, і Д відповідали типовим властивостям, характерним для збудника за морфологічними, культуральними, біохімічними, біологічними і серологічними показниками, тому були відібрані для виготовлення експериментального зразка асоційованої вакцини проти бактеріозів.

Серед задепонованих штамів *E. coli* всі культури відповідали типовим властивостям, характерним для збудника ешерихіозу. Для конструювання асоційованої вакцини обрали *E. coli* штам «Чернігівський-44», якому були притаманні гемолітичні властивості (оскільки із 6 штамів лише 4 утворювали зону гемолізу на кров'яному МПА) і різнився від інших рухливістю, а значить мав джгутиковий Н-антиген.

Особливості конструювання дослідного зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан». Враховуючи дані попередніх досліджень з вивчення відповідності типовим властивостям збудників *C. perfringens* типів А, В, С, Д і *E. coli* та підбору перспективних штамів, сконструйовано експериментальний зразок асоційованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин з пропорційними співвідношеннями перфрингіозних та ешерихіозного антигенів по 50,0 % кожного у складі препарату. Після проведення конструювання зразка вакцини до її складу додавали імуномодулюючий засіб за рецептом доктора ветеринарних наук, професора В. П. Риженка, що представляє собою суміш речовин рослинного походження, продуктів бджільництва та допоміжних речовин.

Результати лабораторного контролю експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан». Зразок вакцинного препарату є прозорою, зеленуватого відтінку рідиною із осадом, який при струшуванні розбивається у гомогенну масу блакитно-сірого кольору, із рівнем рН – 7,2; залишковою кількістю формальдегіду – 0,0068 %.

Результати бактеріологічних досліджень підтвердили повну інактивацію та відсутність контамінації живими бактеріями і мікроскопічними грибами дослідного зразка вакцини, оскільки не виявлено будь-якого росту мікроорганізмів чи грибів за культивування посівів за відповідних температурних режимів. Експериментальний зразок вакцини «Вельшиколісан» був нетоксичним і нешкідливим для організму тварин, оскільки за його

застосування дослідні білі миші і мурчаки залишилися живими, у них не виявлено ознак захворювання чи будь-яких патологічних змін у тканинах на місці інюкуляції препарату та вірогідно зростали показники середньої живої маси на 18,6 та 19,9 % відповідно ($p < 0,01$), у мурчаків – на 4,6 %, порівняно із початковими даними.

Застосування кролям дослідного зразка вакцини забезпечувало стабільне вірогідне зростання рівня аглютининів, специфічних до антигенів *C. perfringens* тип В і *E. coli* у 5 разів, до антигену *C. perfringens* тип С – у 4 рази ($p < 0,001$), що свідчило про формування специфічного захисту.

Серед лабораторних тварин, щеплених дослідним зразком асоційованої вакцини та послідуочим їх зараженням підтитрованими мінімальними летальними дозами збудників *C. perfringens* типів В і С та *E. coli*, препарат показав збереженість 83,3 % вакцинованих тварин за 90,0 % загибелі невакцинованих білих мишей, що свідчило про імунобіологічну перебудову в організмі та формування напруженого імунітету (рис. 2).

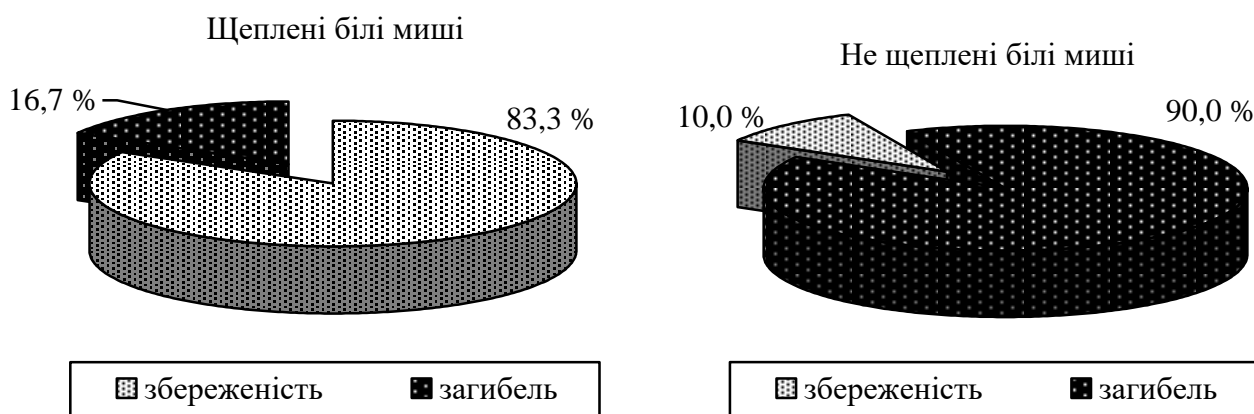


Рис. 2. Показники збереженості білих мишей, щеплених дослідним зразком асоційованої вакцини, після інфікування культурами збудників перфрингіозів та ешерихіозу

Доклінічні випробування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на лабораторних тваринах. З метою вивчення функціональної активності плазматичних клітин, як показника біосинтезу специфічних антитіл, та оцінки напруженості імунітету у імунізованих кролів, визначено титри специфічних антитіл до антигенів *C. perfringens* тип В, *C. perfringens* тип С та *E. coli* в сироватці крові тварин.

За аналізом результатів досліджень з'ясовано, що уже через 7 діб після щеплення в сироватці крові кролів було виявлено специфічні антитіла до *C. perfringens* тип В у титрах $2,8 \pm 0,20 \log_2$.

За результатами обліку РА встановлено, що через 7 діб після першого щеплення кролів дослідним зразком асоційованої вакцини, титри антитіл специфічних до *C. perfringens* тип С вірогідно зростали у 17 разів, порівняно із показниками у невакцинованих тварин, продовжували динамічно зростати і за закінчення терміну експерименту вірогідно перевищували у 30 разів показники

у кролів контрольної групи, що свідчило про імуногенність виготовленого зразка вакцини та сприяло формуванню напруженого імунітету проти *C. perfringens* тип С. (рис. 3).

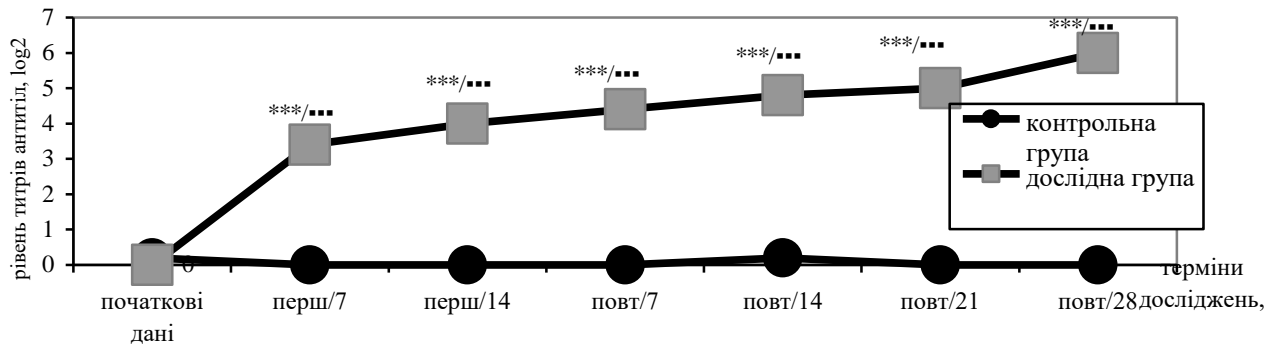


Рис. 3. Рівень аглютининів специфічних до *C. perfringens* тип С за імунізації кролів

За закінчення експерименту рівень аглютининів, специфічних до *E. coli* вірогідно підвищувався на 51,9 %, порівняно із показниками, одержаними через 7 діб після першого щеплення кролів, що свідчить про імунобіологічну перебудову в організмі щеплених тварин та формування специфічного захисту проти збудника *E. coli* (рис. 4).

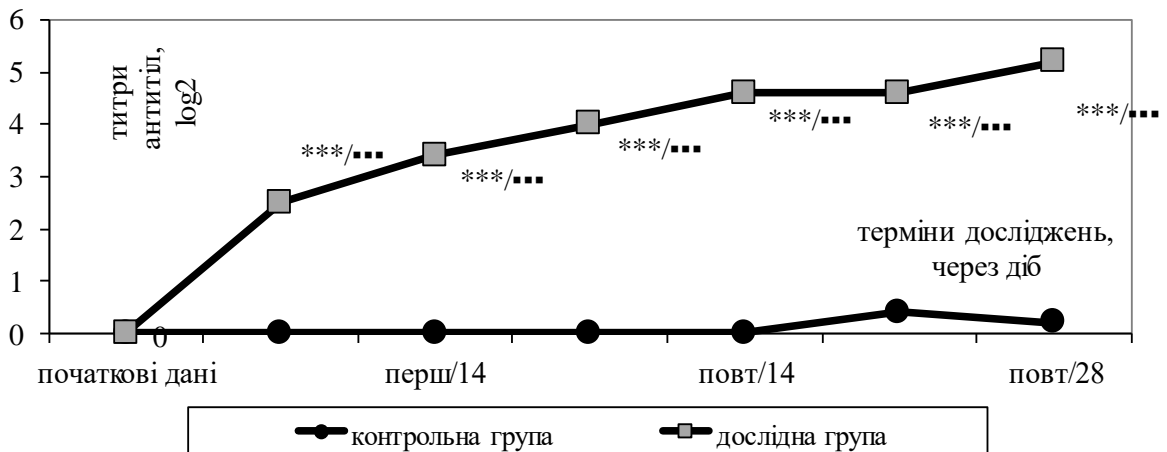


Рис. 4. Рівень титрів антитіл, специфічних до *E. coli*, в сироватці крові щеплених кролів

Результати досліджень з вивчення взаємодії в організмі кролів антигенів *C. perfringens* і *E. coli*, що входять до складу вакцин, за їх щеплення експериментальними зразками асоційованої вакцини «Вельшиколісан» та моновакцинами «Колісан» і «Вельшисан». За порівняльним аналізом результатів досліджень у РА сироваток крові кролів, щеплених дослідним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан» і дослідними зразками моновакцин: «Вельшисан-1», «Вельшисан-2» та «Колісан», до складу яких входять відповідні моноантигени у концентраціях,

таких як у асоційованій вакцині, було встановлено факт відсутності конкуренції антигенів в організмі вакцинованих кролів, оскільки рівні аглютининів, специфічних до *C. perfringens* типів В, С і *E. coli* були вищими за застосування дослідного зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» відповідно на 13,8 % ($p < 0,01$); 26,7 ($p < 0,001$) та 3,2 %, що підтверджувало вищу спроможність асоційованої вакцини до специфічного захисту тварин одночасно проти кількох збудників інфекції (рис. 5).

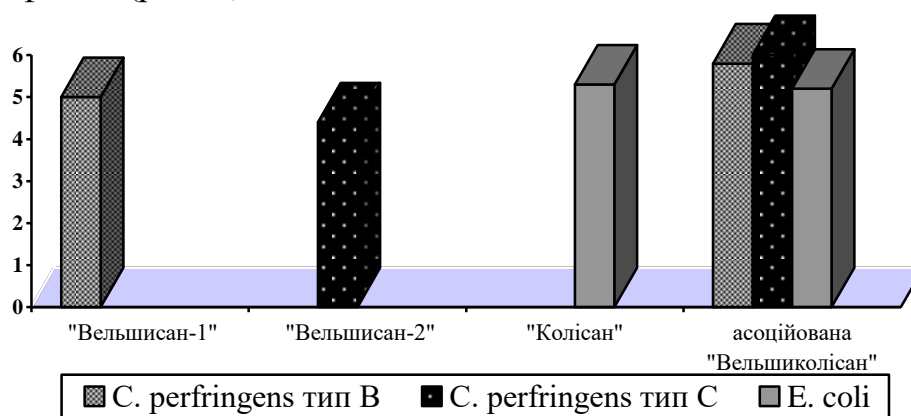


Рис. 5. Рівень аглютининів, специфічних до антигенів *C. perfringens* і *E. coli*, у щеплених кролів

Результати клініко-гематологічних обстежень кролів, імунізованих дослідним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан». Результати клінічних обстежень дають підстави вважати, що застосування кролям експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» є безпечним для тварин, не викликає будь-яких порушень зі сторони фізіологічного стану кролів, оскільки показники загальної температури тіла знаходилися у межах норми за збереження апетиту, адекватності поведінки, росту і розвитку тварин зі зростаючими показниками живої маси, незважаючи на тимчасову незначну безболісну місцеву реакцію тканин, яка зникла упродовж 3–4 діб.

Результати досліджень показали тенденцію до зростання кількості лейкоцитів у вакцинованих кролів. Так, порівняно із початковими показниками, через 7 діб після повторного щеплення і до кінця експерименту вони вірогідно зростали у межах 14,2–15,3 % ($p < 0,05$) (рис. 6).

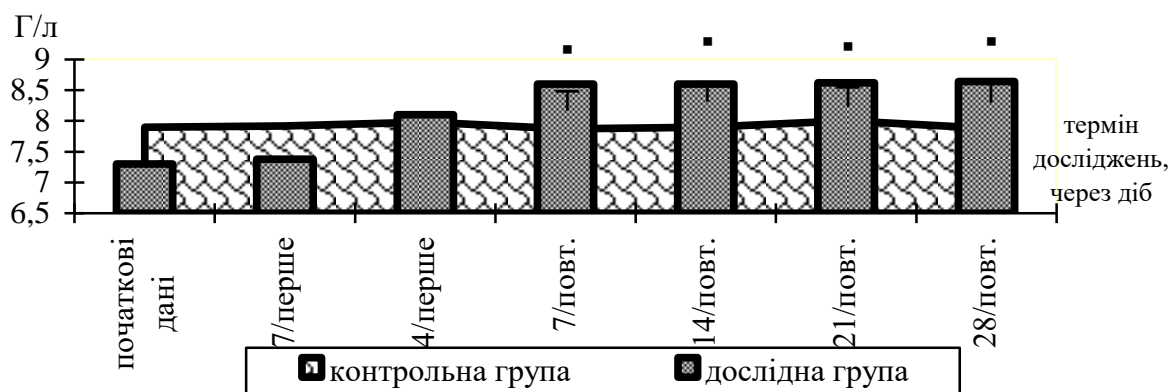


Рис. 6. Кількість лейкоцитів у щеплених та невакцинованих кролів

Як показали результати підрахунку лейкограми, за закінчення терміну експерименту спостерігалось вірогідне збільшення кількості лімфоцитів у вакцинованих кролів на 19,3 % ($p < 0,05$), порівняно із початковими показниками і показниками у невакцинованих тварин. Це вказувало на активізацію клітинної ланки імунітету у кролів після застосування дослідної вакцини (рис. 7).

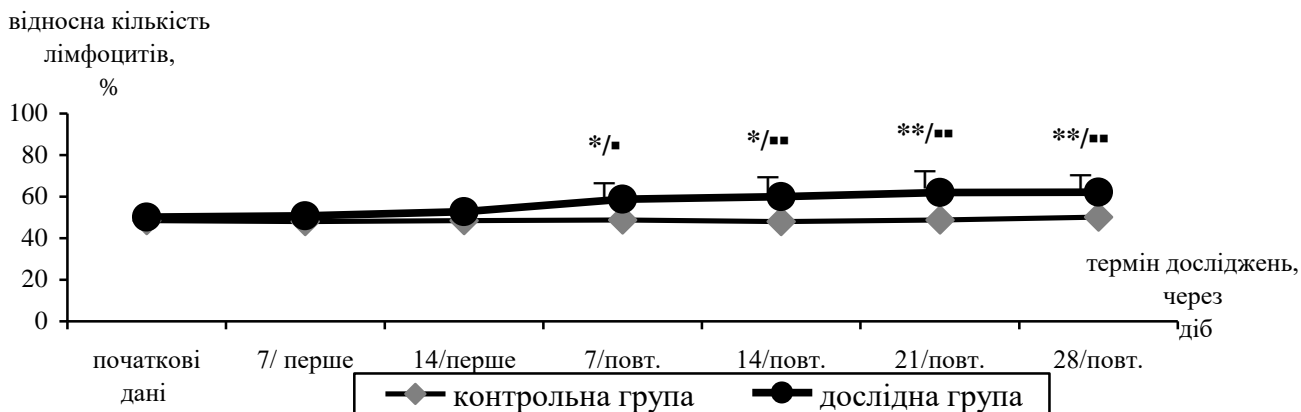


Рис. 7. Кількісні показники лімфоцитів у щеплених та нещеплених кролів

Підтверджувала активізацію клітинної ланки імунітету і позитивна динаміка показників абсолютної кількості лімфоцитів у вакцинованих тварин, які вірогідно перевищували відповідно на 26,4 ($p < 0,001$) та 31,8 % ($p < 0,001$) показники у кролів контрольної групи та власне початкові дані (рис. 8).

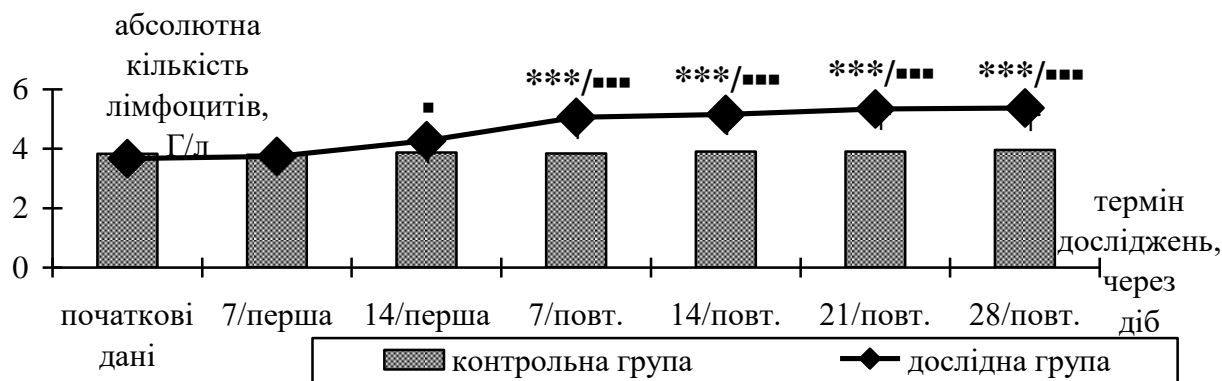


Рис. 8. Динаміка показників абсолютної кількості лімфоцитів у кролів, щеплених дослідним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан»

Дослідження стану природних клітинних факторів захисту організму за показниками ОФР. Після застосування кролям експериментального зразка вакцини «Вельшиколісан» спостерігалася активізація природних захисних факторів організму – фагоцитозу, що засвідчено зростанням показників його активності до антигенів: *S. perfringens* тип В вірогідно у 1,9; *S. perfringens* тип С і *E. coli* – у 1,6 рази ($p < 0,001$), зростанням показників його інтенсивності до всіх антигенів, але з вірогідними значеннями лише до антигену *S. perfringens* тип В – на 17,3 %; вірогідним збільшенням фагоцитарного числа до *S. perfringens* тип В – на 47,1 %; *S. perfringens* тип С – на 36,0 % та *E. coli* – на

36,2 % та величиною опсонічних індексів до *C. perfringens* тип В – 1,6 %; до *C. perfringens* тип С – 1,5 % та *E. coli* – 1,4 %.

Одержані результати досліджень підтверджують імунобіологічну перебудову в організмі щеплених кролів, активізацію імунного фагоцитозу та формування специфічного захисту у тварин проти перфрингіозних та ешерихіозного збудників.

Дослідження впливу дослідного зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на показники неспецифічного гуморального захисту організму у щеплених кролів. Біохімічні процеси, що протікають в організмі тварин, тісно пов'язані із його гомеостазом і природною резистентністю. Оскільки показники вмісту загальних імуноглобулінів у сироватці крові тварин є інтегральним критерієм оцінки функціональної активності імунокомпетентних клітин, то нами вивчено їхню динаміку у кролів, щеплених експериментальним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан». Результати досліджень показали тенденцію до зростання рівня загальних імуноглобулінів який через 28 діб після повторної імунізації вірогідно перевищував відповідно на 22,5 ($p < 0,001$) та 20,9 % ($p < 0,01$) показники тварин контрольної групи та власні початкові дані (табл.1).

Встановлено, що дослідний зразок асоційованої вакцини «Вельшиколісан» позитивно впливав на організм щеплених тварин, про що свідчать показники альбумінів, α - і β -глобулінів, альбуміно-глобулінового коефіцієнта. Вакцинний препарат сприяв імунобіологічній перебудові у організмі вакцинованих тварин, оскільки за одержаними результатами досліджень виявлено позитивну динаміку за вірогідного зростання кількісного вмісту γ -глобулінової фракції білка відповідно на 32,1 та 37,1 % ($p < 0,001$), порівняно із початковими показниками і показниками у невакцинованих тварин.

Свідченням імунобіологічної перебудови в організмі щеплених кролів була активізація неспецифічних факторів гуморальної ланки імунітету, що підтверджено одержаними показниками вмісту середньомолекулярних ЦК, які вірогідно зростали на 36,6 та 37,0 % ($p < 0,001$), порівняно із показниками у невакцинованих тварин та власними початковими даними.

Гетерофільні аглютиніни забезпечують стабільність гомеостазу організму, оскільки виконують захисну функцію, аглютинуючи всі антигени, що надходять у організм, відповідаючи зростанням власного синтезу.

Застосування кролям дослідного зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» сприяло підвищенню рівня титрів гетерофільних аглютинінів, які вірогідно зростали на 40,0 % ($p < 0,001$) через 7 діб після першого та на 53,5 % ($p < 0,001$) після повторного щеплень. Надалі їхня концентрація поступово знижувалася до початкових даних, оскільки гетероаглютиніни представлені Ig M, синтез яких у щеплених тварин триває близько 3 тижнів, а далі зростає синтез Ig G.

Таблиця 1

Результати досліджень з вивчення впливу експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на неспецифічні показники гуморальної ланки імунітету у щеплених кролів; $M \pm m$; г/л; $n=10$

Показник	Група тварин	Початкові дані	Після щеплень через, діб:					
			першого		повторного			
			7	14	7 (21)	14 (28)	21 (35)	28 (42)
Імуноглобуліни, мг/мл	контрольна	13,9±0,03	14,50±0,70	14,30±0,33	14,84±0,30	14,80±0,70	14,20±0,33	14,50±0,10
	дослідна	14,8±0,10	15,50±1,10	15,80±0,01	16,50±0,90	18,50±0,30 **/■	18,50±0,70 **/■	18,70±0,20 ***/■
Альбуміни, %	контрольна	63,03±1,69	61,78±0,84	62,51±1,04	62,54±0,35	62,90±1,03	62,63±1,21	62,52±0,98
α -глобуліни:		11,09±0,21	11,64±0,40	11,42±0,33	11,52±0,30	11,33±0,33	11,10±0,08	11,47±0,19
β -глобуліни		9,09±0,47	9,09±0,08	9,64±0,27	9,84±0,23	10,07±0,65	9,11±0,08	9,91±0,46
γ -глобуліни		16,79±1,94	17,49±0,97	16,43±1,64	16,09±0,85	15,70±1,00	17,60±1,17	16,10±0,97
Альбуміни, %	дослідна	64,22±3,86	59,61±3,23	60,50±4,58	57,55±0,79	59,13±0,87	58,87±0,06	57,37±0,74
α -глобуліни:		11,15±0,86	9,57±1,13	9,39±0,15	11,62±0,87	9,38±0,21	9,35±0,23	9,60±0,18
β -глобуліни		8,13±0,48	10,38±1,12	9,72±0,01	7,48±0,08	8,38±0,34	7,97±0,40	7,43±0,06
γ -глобуліни		17,38±4,5	20,54±1,05 */■	20,39±1,73 **/■	23,35±1,40 **/■	23,11±0,67 ***/■	23,82±0,34 ***/■	25,60±0,51 ***/■
Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	контрольна	0,9	1,2	1,2	1,4	1,5	1,4	1,4
	дослідна	0,9	0,9	1,0	1,0	1,2	1,0	1,0
ЦК, ум. од.	контрольна	14,60±2,80	14,40±0,80	14,68±0,82	14,60±1,20	14,85±2,80	14,50±1,30	14,58±2,50
	дослідна	14,50±3,50	16,40±4,60	19,70±0,80 **/■	22,50±0,70 ***/■	22,50±2,70 ***/■	22,80±3,50 ***/■	23,00±1,00 ***/■
Гетерофільні аглютиніни, \log_2	контрольна	2,33±0,33	2,00±0,01	2,00±0,01	2,00±0,01	2,33±0,33	2,00±0,01	2,00±0,01
	дослідна	2,00±0,01	3,33±0,33 ***/■	4,30±0,33 ***/■	3,00±0,01 ***/■	2,33±0,01 /■	2,00±0,01	2,00±0,01

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, порівняно із показниками тварин контрольної групи;

■ – $p < 0,05$; ■ – $p < 0,01$; ■ – $p < 0,001$, порівняно із початковими показниками.

Виробничі випробування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан». Застосування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» в умовах господарств з високим рівнем ураженості збудниками перфрингіозів і ешерихій, які проявлялися симптомокомплексом ураження шлунково-кишкового тракту, сприяло імунологічній перебудові в організмі свиней, забезпечувало вірогідне зростання титрів специфічних аглютининів до *S. perfringens* тип В у свиноматок відповідно більше як у 12,3 раза, у поросят – більше 9,5 раза; до *S. perfringens* тип С у свиноматок більше, як у 13,6 раза, у поросят – більше 10,5 раза; до *E. coli* у свиноматок більше у 7,2 раза та у поросят – більше у 7,7 раза ($p < 0,001$), порівняно із початковими показниками відповідно.

Застосування дослідного вакцинного препарату в проблемних господарствах упродовж двох років сприяло поліпшенню епізоотичної ситуації, зменшенню захворюваності в господарствах: ПСП «Рекорд» – на 50,0 %, смертності – на 38,0 %; СТОВ «Надія» – на 48,0 %, смертності – на 58,0 %; в корпорації «Украгротех» відповідно – на 31,0 і 12,0 %. При цьому, в усіх господарствах у щеплених поросят зростали показники середньої живої маси відповідно на 14,0–24,0 %. Упродовж двох років за застосування експериментального зразка асоційованої вакцини середня економічна ефективність складала: в ПСП «Рекорд» – 320 тис. грн; СТОВ «Надія» – 409 тис. грн, корпорації «Украгротех» – 240 тис. грн на рік, що підтверджувало ефективність та доцільність застосування експериментального зразка вакцини «Вельшиколісан».

ВИСНОВКИ

У дисертації представлено матеріали бактеріологічного моніторингу бактеріозів свиней, пов'язаних з ураженням шлунково-кишкового тракту, в господарствах України за останні 5 років та експериментально обґрунтовано вивчення видового спектру мікробних асоціацій за їх змішаного перебігу, визначення чутливості ізолятів збудників та найпоширеніших мікробних асоціацій до антибактеріальних препаратів, здійснено підбір перспективних штамів мікроорганізмів та проведено конструювання експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» проти найпоширеніших бактеріозів свиней, проведено лабораторний контроль її якості, доклінічні дослідження на лабораторних тваринах і апробацію в умовах господарств.

1. За результатами бактеріологічного моніторингу за період 2010–2015 рр., встановлено що на території України у свиней зареєстровано більше 16 захворювань бактеріальної етіології самостійних та за асоційованого перебігу з ураженнями шлунково-кишкового тракту, провідними серед яких є колібактеріоз, набрякова хвороба, дизентерія свиней, інфекційна ентеротоксемія, бешиха, сальмонельоз. Видовий спектр за асоційованого перебігу бактеріозів свиней представлено *E. coli*, *S. perfringens* типи А, В, С і Д, *P. multocida*, *Pr. vulgaris*, *S. septicum*, *S. oedematiens*,

S. choleraesuis, *S. aureus*, *St. zoepidemicus*, *Ac. pleuropneumoniae*, *F. necrophorum*, *D. lanceolatus*.

2. Визначено, що із 34 різновидностей застосованих антибіотиків бактерицидну дію на ізоляти *C. perfringens* проявляли 11,8 та ізоляти *E. coli* – 20,6 % препаратів, представлених групами фторхінолонів, цефалоспоринів і карбопенемів. Найвищий рівень бактерицидної дії притаманний антибіотику норфлуксацину – представнику групи фторхінолонів, оскільки він згубно діяв на ізоляти *C. perfringens* і *E. coli* та всі мікробні асоціації за їх участю.

3. Результатами бактеріоскопічних, бактеріологічних, біологічних, серологічних досліджень, встановлено що культури *C. perfringens* тип А штам «Запорізький», *C. perfringens* тип В штам «Полонський», *C. perfringens* тип С штам «Славутський» і *C. perfringens* тип Д штам «Хмельницький» та культура *E. coli* штам «Чернігівський-44» відповідали типовим властивостям, характерним для збудників перфрингіозів і ешерихіозів. Тому були відібрані в якості перспективних штамів для конструювання експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» у пропорційних співвідношеннях перфрингіозних та ешерихіозного антигенів (по 50,0 % кожного у складі препарату).

4. За результатами проведеного лабораторного контролю якості виготовленого дослідного зразка асоційованого вакцинного препарату, встановлено що рівень рН складав 7,2; залишкова кількістю вільного формальдегіду 0,0068 %. Дослідний зразок вакцини є нетоксичним і нешкідливим, оскільки упродовж терміну досліджень не виявлено загибелі чи ознак захворювання після інокуляції препарату інбредним білим мишам і мурчакам та встановлено вірогідне зростання показників середньої живої маси у першій та другій дослідних групах мишей відповідно на 18,6 та 19,9 % ($p < 0,01$) та у мурчаків – на 4,6 %. Експериментальний зразок вакцини є антигенноактивним, оскільки титри аглютининів, специфічних до *C. perfringens* тип В і *E. coli* зростають вірогідно у 5 разів, до *C. perfringens* тип С – вірогідно у 4 рази ($p < 0,001$).

Загальна імуногенна активність дослідного зразка асоційованої вакцини забезпечувала збереженість 83,3 % вакцинованих білих мишей за 90,0 % загибелі нещепленого поголів'я тварин при їхньому зараженні підтитрованими DLM добових культур збудників, які входять до складу препарату.

5. Підтверджена активізація імуногенезу в організмі щеплених кролів, оскільки через 28 діб після повторної вакцинації титри антитіл, специфічних до *C. perfringens* тип В, вірогідно зростали на 51,8 %; до *C. perfringens* тип С – на 30,0 %; до *E. coli* – на 51,9 %, порівняно із показниками кролів контрольної групи. Підтверджена відсутність конкуренції антигенів в організмі щеплених тварин, оскільки рівень титрів аглютининів, специфічних до *C. perfringens* типів В, С і *E. coli*, був відповідно вищим на 13,8 %; 26,7 ($p < 0,001$) та 3,2 % у кролів, щеплених дослідним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан», порівняно з аналогічними показниками у кролів, щеплених відповідними моновакцинами, що підтверджувало вищу спроможність асоційованої вакцини до специфічного захисту тварин одночасно проти кількох збудників інфекцій.

6. Виявлено активізацію клітинної ланки імунітету у щеплених кролів за кількістю загальних лейкоцитів, які вірогідно зростали на 14,2–15,8 % ($p < 0,05$); показниками відносної та абсолютної кількості лімфоцитів, оскільки вони зростали відповідно на 19,3 % ($p < 0,05$) та 26,4 і 31,8 % ($p < 0,001$), порівняно із показниками тварин контрольної групи. Зростала активність природного клітинного захисту, що засвідчено показниками ФА, які вірогідно були вищими до антигенів: *C. perfringens* тип В вірогідно у 1,9; *C. perfringens* тип С і *E. coli* – у 1,6 раза ($p < 0,001$); показниками ФЧ, які вірогідно зростали до *C. perfringens* тип В – на 47,1 %; *C. perfringens* тип С – на 36,0 та *E. coli* – на 36,2 %, порівняно із показниками у тварин контрольної групи та опсонічними індексами, які за дослідження *C. perfringens* тип В склали 1,6; *C. perfringens* тип С – 1,5 та *E. coli* – 1,4 ум. од.

7. Доведено позитивний вплив дослідного зразка асоційованої вакцини на організм щеплених кролів, про що свідчить стабільна концентрація альбумінів, α - і β -глобулінів та альбуміно-глобулінового коефіцієнта. Підтверджена імунобіологічна перебудова в організмі щеплених тварин, оскільки виявлено позитивну динаміку щодо кількісного вмісту γ -глобулінової фракції білка відповідно на 32,1 та 37,1 % ($p < 0,001$); зростання рівня загальних імуноглобулінів відповідно на 22,5 ($p < 0,001$) та 20,9 % ($p < 0,01$); збільшення вмісту середньомолекулярних ЦК, вірогідно зростаючих відповідно на 36,6 та 37,0 % ($p < 0,001$); підвищення титрів гетерофільних аглютинінів на 53,5 % ($p < 0,001$) після повторного щеплення, порівняно із показниками у невакцинованих тварин та власними початковими даними.

8. Встановлено, що застосування експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» в господарствах Чернігівської області – ПСП «Рекорд», Корюківського району, СТОВ «Надія» Бахмацького району та Черкаської обл. – корпорація «Украгротех» Христинівського району з високим рівнем ураженості збудниками перфрингіозів і ешерихій, сприяло формуванню специфічного імунітету проти бактеріозів свиней, оскільки титри специфічних аглютинінів вірогідно зростали, а економічна ефективність від застосування дослідного зразка асоційованої вакцини складала відповідно 320, 409 тис. грн та 240 тис. грн на рік.

ПРОПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПРАКТИКИ

Для удосконалення специфічної профілактики змішаних бактеріозів, спричинених збудниками *C. perfringens* і *E. coli*, розроблено та запропоновано:

1. Вакцину асоційовану інактивовану «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин (патент України на корисну модель № 75304 від 26.11.2012 р.).

2. Комплект нормативної документації: ТУ У 24.4 – 05510830-002: 2014 (затверджено 11.02.2014 р.); Настанова щодо застосування вакцини асоційованої інактивованої концентрованої проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу

тварин «Вельшиколісан» (затверджено 11.02.2014 р.); Проект інструкції з виготовлення та контролю вакцини асоційованої інактивованої проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колибактеріозу тварин.

3. Методичні рекомендації «Відбір біологічного матеріалу для лабораторних досліджень на анаеробні інфекції» (затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 1 від 21 грудня 2011 р.) та методичні рекомендації «Вивчення чутливості анаеробних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 4 від 21 грудня 2011 р.).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Довгострокове зберігання виробничих штамів роду *Clostridium* / [Акименко Л. І., Риженко В. П., Мілько Л. С., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**] // Ветеринарна біотехнологія. – 2011. – № 19. – С. 13–19. (Здобувач опрацювала літературні джерела, брала участь у проведенні досліджень, підготувала висновки).

2. Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.) Експериментальне обґрунтування вакцинопрофілактики перфрінгіозів і ешерихіозів свиней / Т. М. Мазигула (Т. М. Уховська) // Ветеринарна біотехнологія. – 2012. – № 20. – С. 98–106.

3. Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.) Актуальність специфічної профілактики перфрінгіозів / Т. М. Мазигула (Т. М. Уховська) // Ветеринарна біотехнологія. – 2012. – № 21. – С. 15–20.

4. Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.) Теоретичне та експериментальне обґрунтування одночасної вакцинопрофілактики перфрінгіозів та ешерихіозів тварин / Т. М. Мазигула (Т. М. Уховська) // Науковий вісник ветеринарної медицини. – 2013. – Вип. 11 (101). – С. 107–110.

5. Теоретичне та експериментальне обґрунтування використання нанотехнологій для створення імунобіологічних препаратів / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Тютюн С. М., Тютюн В. А., Жовнір О. М., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Каменчук П. П., Рудой О. В., Теплюк Н. А., Мілько Л. С.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2013. – № 23. – С. 235–239. (Здобувач опрацювала літературні джерела, провела 25 % досліджень, зробила висновки).

6. Специфічна профілактика анаеробних інфекцій тварин в Україні / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Жовнір О. М., Рудой О. В., Тютюн С. М., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Каменчук П. П., Теплюк Н. А., Мілько Л. С., Риженко В. В.] // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. – 2013. – Вип. 188. – Ч. 4. – С. 61–71. (Здобувач провела моніторинг профілактичних засобів проти анаеробних інфекцій в Україні, в країнах СНГ та Європи).

7. Обґрунтування біотехнології створення асоційованих вакцин / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Рудой О. В., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**] // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 198–203. *(Здобувач опрацювала літературні джерела, брала участь у проведенні досліджень).*

8. Експериментальне обґрунтування ефективності застосування асоційованої вакцини «Вельшиколісан» / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Рудой О. В., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Тютюн С. М., Теплюк Н. А., Каменчук П. П., Терешко Б. М.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 204–210. *(Здобувач опрацювала літературні джерела, провела близько 40,0 % досліджень, зробила висновки).*

9. Біотехнологія нановакцин. Вплив нанопрепарату AgNP на ростові властивості патогенних збудників / [Риженко В. П., Ничик С. А., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Грузина Т. Г., Резниченко Л. С., Дибкова С. М., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Рудой О. В., Тютюн С. М.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 219–227. *(Здобувач провела близько 40 % досліджень та статистичну обробку результатів).*

Стаття у науковому виданні іншої держави

10. Мазигула Т. Н. (Уховская Т. Н.) Антигенная структура и антибиотикочувствительность *E. coli* и ассоциированных с ней микроорганизмов, выделенных от свиней из разных регионов Украины / Мазигула Т. Н. (Мазигула Т. Н.) // Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария. – 2013. – № 2. – С. 39–47.

Патент

11. Патент України на КМ № 75304, МПК А61К 9/08 (2006.01) А61К 31/115 (2006.01) Вакцина «Вельшіколісан» асоційована інактивована концентрована проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колибактеріозу тварин» / [Риженко В. П., Ничик С. А., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Галка І. В., Тютюн В. А., Мілько Л. С., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**]; заявник і патентовласник: Інститут ветеринарної медицини НААН України – заявл. U2012 06190 від 23.05.2012; опубл. 26.11.2012; Бюл. № 22 *(Здобувач виконав експериментальну частину та оформила патент).*

Науково-методичні рекомендації:

12. Методичні рекомендації. Відбір біологічного матеріалу для лабораторних досліджень на анаеробні інфекції / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріящук В. О., Галка І. В., Белік С. М., Жовнір О. М., Рудой О. В., Теплюк Н. А., Мілько Л. С., Каменчук П. П., Тютюн В. А., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Ющенко М. С.]. – Київ, 2012. – 48 с. *(Затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 1 від 21 грудня 2011 р. Здобувач провела близько 60 % досліджень,*

написала вступ та матеріали з питань охорони праці при проведенні досліджень біоматеріалу від загиблих тварин).

13. Вивчення чутливості анаеробних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні рекомендації [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Галка І. В., Белік С. М., Жовнір О. М., Риженко В. В., Рудой О. В., Теплюк Н. А., Мілько Л. С., Каменчук П. П., Тютюн В. А., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**, Ющенко М. С.]. – Київ, 2012. – 48 с. (Затверджено науково-технічною радою Держветфітослужби України, протокол № 4 від 21 грудня 2011 р. Здобувач опрацювала літературні джерела та провела їх аналіз, написала «Вступ» та описала близько 30,0 % об'єму матеріалів, які увійшли до методичних рекомендацій).

Тези наукових доповідей:

14. Розробка та удосконалення засобів профілактики анаеробних інфекцій / [Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Дементьєва С. А., Риженко В. В., Андріяшук В. О., Галка І. В., Белік С. М., Жовнір О. М., Рудой О. В., Теплюк Н. А., Мілько Л. С., Каменчук П. П., Ющенко М. С., **Мазигула Т. М. (Уховська Т. М.)**] // Ветеринарна медицина та якість і безпека продукції тваринництва: X Міжнародна конференція науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів, 16–17 березня 2011 р.: тези доповіді – К., 2011. – С. 254–255. (Здобувач провела близько 30 % досліджень та статистичну обробку результатів).

15. Epizootic Monitoring of Porcine Bacterial Diseases on the Territory of Ukraine / [**Mazigula T. (Ukhovskaya T.)**, Nychyk S., Rizhenko V., Postoienko V., Rozumnuk A.] // 2014 ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting, January, 27–29. – Washington, DC. – 2014. – P. 71. (Здобувач провела 70 % досліджень, зробила висновки).

АНОТАЦІЯ

Уховська Т. М. Особливості шлунково-кишкових бактеріозів свиней та розробка засобів їх специфічної профілактики. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2016.

Дисертація присвячена дослідженням з вивчення найпоширеніших бактеріальних захворювань та видового спектру мікробних асоціацій за змішаного перебігу бактеріозів у свиней. У дисертаційній роботі викладено результати з визначення чутливості ізолятів збудників *C. perfringens* і *E. coli* та основних мікробних асоціацій за їх участю до антибактеріальних препаратів. Відображено результати досліджень з відбору і перевірки штамів *C. perfringens* типів А, В, С, Д і *E. coli* на відповідність основним типовим властивостям, характерним для згаданих збудників та проведено виготовлення

експериментального зразка асоційованої вакцини «Вельшиколісан» проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин. В дисертаційній роботі представлено результати лабораторного контролю виготовленого дослідного зразка асоційованої вакцини за зовнішнім виглядом вакцинного препарату, рівнем рН, показниками залишкової кількості вільного формальдегіду, відсутністю контамінації живими бактеріями та мікроскопічними грибами. Показано результати досліджень на нетоксичність, нешкідливість вакцинного препарату, антигенну активність та імуногенну ефективність дослідного зразка вакцини.

В матеріалах дисертаційної роботи представлено результати доклінічних випробувань експериментального зразка асоційованої вакцини на кролях із клініко-гематологічними обстеженнями щеплених та нещеплених тварин, з визначенням конкуренції антигенів в організмі кролів, щеплених моновакцинами та дослідним зразком асоційованої вакцини «Вельшиколісан» за порівняльними результатами з визначення рівня титрів аглютининів, специфічних до *S. perfringens* типів В і С та *E. coli*.

В дисертації викладено результати експериментальних досліджень, які підтверджують позитивний вплив дослідного зразка вакцинного препарату на клітинні механізми захисту, специфічні та неспецифічні фактори гуморальної ланки імунітету, вивчено економічні показники після застосування експериментального зразка вакцини «Вельшиколісан» в якості профілактичного засобу.

Ключові слова: бактеріози, свині, змішані інфекції, асоційована вакцина, *S. perfringens*, *E. coli*, анаеробна дизентерія молодняка, інфекційна ентеротоксемія, набрякова хвороба, колібактеріоз.

АННОТАЦІЯ

Уховская Т. Н. Особенности желудочно-кишечных бактериозов свиней и разработка средств их специфической профилактики. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 – ветеринарная микробиология, эпизоотология, инфекционные заболевания иммунология. – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, 2016.

Диссертация посвящена исследованиям по изучению наиболее распространённых на территории Украины бактериальных заболеваний свиней. Заболевания свиней бактериальной этиологии регистрируются ежегодно, что связано с отрицательным влиянием на организм свиней целого комплекса факторов, носящих внутренний и внешний характер воздействия. В работе представлены результаты мониторинга бактериозов свиней за последние 5 лет с использованием данных официальной статистики, по результатам которой выявлено более 16 заболеваний, вызванных анаэробными и аэробными возбудителями, поражающими поголовье свиней. Показаны также результаты исследований относительности определения показателей поражённости

поголовья свиней бактериозами. Это дало возможность четко определить, что в инфекционной патологии свиней одна из главных ролей принадлежит колибактериозу, отечной болезни, дизентерии свиней, инфекционной энтеротоксемии, роже и сальмонеллезу. Более того, представлены результаты собственных исследований биоматериала от павших свиней, которые доказывают ассоциированный характер заболеваний бактериального происхождения. При ассоциированных инфекциях свиней в видовом спектре патогенных возбудителей чаще всего выделяли *C. perfringens* и *E. coli*, в т. ч. и гемолитические штаммы эшерихий. В работе представлены результаты исследований, подтверждающие, что в микробных ассоциациях, кроме *C. perfringens* и *E. coli*, выделяли целый ряд других патогенов, в частности *Pasteurella spp.*, *Proteus vulgaris*, *C. septicum*, *C. oedematiens*, *S. choleraesuis*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Ac. pleuropneumoniae*, *F. necrophorum*, *Diplococcus spp.*, что свидетельствует о смешанном течении бактериозов у свиней и подчеркивает необходимость создания специфических профилактических средств защиты для животных.

В диссертационной работе представлены результаты исследований по изучению чувствительности изолятов *C. perfringens* и *E. coli*, а также ассоциированных с ними других возбудителей, к антибактериальным препаратам. Как оказалось, антимикробный спектр эффективных антибиотиков очень ограничен, поскольку бактерицидная активность препаратов проявлялась по отношению к изолятам *C. perfringens* у 11,8, к *E. coli* – у 20,6 % препаратов из 34 исследованных их разновидностей, что явно указывает на существенные трудности в обезвреживании таких возбудителей и их ассоциаций, подчеркивает актуальность вопросов, связанных с созданием средств специфической профилактики смешанных бактериозов свиней.

В диссертации отображены результаты исследований по подбору и проверке на соответствие типичным свойствам штаммов культур *C. perfringens* типов А, В, С, Д и *E. coli*.

В работе изложены особенности конструирования опытного образца ассоциированной вакцины «Вельшиколисан» против анаэробной дизентерии молодняка, инфекционной энтеротоксемии, отечной болезни, колибактериоза животных, которая является смесью инактивированных эпизоотических штаммов *C. perfringens* типов А, В, С, Д и *E. coli* в оптимальных пропорциях, иммуномодулирующих средств природного происхождения, вспомогательных веществ, вследствие чего формируется антибактериальный иммунитет.

В диссертации представлены результаты лабораторного контроля качества изготовленного опытного образца ассоциированной вакцины, представлены показатели внешнего вида вакцинного препарата, уровня рН, остаточного содержания свободного формальдегида, а также результаты проверок на отсутствие контаминации живыми бактериями и микроскопическими грибами, на нетоксичность, безопасность опытного образца вакцины для животных, его антигенной и иммуногенной активности.

Диссертационная работа содержит результаты доклинических исследований изготовленного экспериментального образца вакцины после ее

применения лабораторным животным, в качестве которых была выбрана биологическая модель – на кролях. С целью изучения иммунобиологической перестройки в организме вакцинированных кролей были исследованы уровни титров антител, специфических к *C. perfringens* типов В, С, и *E. coli*, результаты которых также изложены в материалах диссертации. Также изложены результаты исследований по определению отсутствия конкуренции антигенов в организме вакцинированных животных. Поскольку это очень важные показатели при применении именно ассоциированных вакцинных препаратов, исследования проводили с использованием опытного образца ассоциированной вакцины и опытных образцов соответственных моновакцин.

В диссертации представлены результаты экспериментальных исследований, которые подтверждают положительное влияние опытного образца вакцины на клеточные механизмы защиты организма, неспецифические факторы гуморального звена иммунитета по показателям ОФР, концентрации общих иммуноглобулинов, уровня ЦИК и процентного содержания фракций белка в сыворотке крови вакцинированных животных.

Приведены экономические показатели, полученные после применения опытного образца ассоциированной вакцины «Вельшиколисан».

Ключевые слова: бактериозы, смешанные инфекции, ассоциированная вакцина, *C. perfringens*, *E. coli*, анаэробная дизентерия молодняка, инфекционная энтеротоксемия, отечная болезнь, колибактериоз.

ANNOTATION

Ukhovska T. M. Characteristics of swine gastrointestinal bacteriosis and development of its means of specific prevention. – Manuscript.

The thesis is for the degree of candidate of veterinary sciences on specialty 16.00.03 – veterinary microbiology, epizootology, infectious diseases and immunology. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2016.

The thesis is dedicated to researches on the study of the most common bacterial diseases and species spectrum of microbial associations for the mixed bacteriosis in pigs.

The thesis represents the results of sensitivity determination of etiologic agents' *C. perfringens* and *E. coli* isolates and the main microbial associations and its involvement to antibiotics. It shows the results of researches in selection and test of strains *C. perfringens* of types A, B, C, D and *E. coli* as for main typical characteristics that are common to the above mentioned etiologic agents and experimental sample of associated vaccine «Velshikolisan» against anaerobic dysentery in young animals, infectious enterotoxemia, edema disease, colibacillosis of animals was prepared. The thesis represents the results of laboratory control of prepared control sample of associated vaccine in appearance of vaccine, pH level, indicators of residual quantity of free formaldehyde, absence of contamination with living bacteria and micromyces. The results on tests for nontoxicity, safety of vaccine, antigenic activity and immunogenic efficacy of control sample of vaccine are shown.

The materials of the thesis represent the results of preclinical studies on control sample of associated vaccine on rabbits with clinical hematologic studies of vaccinated and unvaccinated animals, with determination of antigens competition in organism of rabbits, vaccinated with monovalent vaccines and control sample of associated vaccine «Velshikolisan» according to comparative results with determination of the level of agglutinin titers typical of *C. perfringens* types B and C and *E. coli*.

The thesis includes the results on experimental studies which confirm positive effect of control vaccine sample on cellular defense mechanism, specific and non-specific factors of a humoral component of immune system; studied economic indicators for the use of control vaccine sample «Velshikolisan» as a means of specific prevention.

Key words: bacteriosis, swine, mixed infections, associated vaccine, *E. coli*, *C. perfringens*, anaerobic dysentery in young animals, infectious enterotoxemia, edema disease, colibacillosis.

