

1292

ГОСАГРОПРОМ СССР  
ЛЕНИНГРАДСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ

---

На правах рукописи

ДУБРОВ ИВАН СЕМЕНОВИЧ

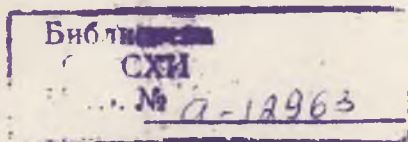
УДК 619:616.98:579.843.95П:616.98-084

ОСНОВЫ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА УТОК АЭРОЗОЛЯМИ  
ВТОРОЙ ВАКЦИНЫ КРАСНОДАРСКОЙ НИВС (из штамма "К") ПРОТИВ  
ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология и микология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук



Ленинград - 1987

Работа выполнена в Краснодарской научно-исследовательской ветеринарной станции и институте биологии Карельского филиала Академии Наук СССР.

Научный руководитель — доктор биологических наук, профессор  
Болотников И.А.

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор Радчук Н.А.,  
кандидат биологических наук, старший научный  
сотрудник Борисенкова А.Н.

Ведущая организация: Всесоюзный ордена Ленина научно-  
последовательский институт экспериментальной ветеринарии  
им. Н. Р. Коваленко.

Защита диссертации состоится *14 декабря* 1987 г. в  
13 часов на заседании специализированного совета Д 120.20.02,  
при Ленинградском ветеринарном институте по адресу: Ленинград,  
Московский проспект, 112.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ленинград-  
ского ветеринарного института.

Автореферат разослан *10* *ноября* 1987 г.

Ученый секретарь  
специализированного совета

Киндрин Т.М.

## В В Е Д Е Н И Е

Актуальность темы. Решениями XXV съезда КПСС большое значение придается дальнейшему развитию животноводства, в том числе птицеводства.

Продовольственная программа СССР на период до 1990 года, одобренная майским (1982 г.) Пленумом ЦК КПСС, планирует довести в двенадцатой пятилетке производство мяса птицы до 3,4 - 3,6 миллионов тонн, яиц до 80-82 млрд. штук, что вполне возможно при современном ведении промышленного птицеводства, которое характеризуется высокой эффективностью производства за счет концентрации поголовья на ограниченной территории, применения современных технологий и получения максимального количества продукции при минимальных затратах. В таких условиях необходимо обеспечить стойкое ветеринарное благополучие птицефабрик, что может быть достигнуто при рациональном и своевременном проведении специальных мер, в том числе вакцинации птиц.

Специфическая профилактика в комплексе мероприятий в борьбе с различными инфекционными болезнями птиц является мощным противозoonотическим средством.

Создание птицеводческих хозяйств промышленного типа, дальнейшая их индустриализация диктуют новые, более высокие требования к ветеринарному обслуживанию, основным принципом которого с первых дней его организации являлась и является профилактика болезней. Однако методы профилактики нередко трудоемки, дороги, и, в ряде случаев, недостаточно эффективны.

Одним из путей ликвидации трудоемких процессов в ветеринарии, облегчения труда специалистов, снижения затрат на осуществление профилактических мероприятий и повышения их эффективности является разработка и внедрение групповых методов вакцинации птиц, среди которых особое место отводится методу ингаляционной (аэрозольной) вакцинации, которая находит в последнее время все более широкое применение при иммунизации животных и птиц. Однако, для иммунизации уток до недавнего времени она не применялась.

Учитывая отсутствие работ по определению эффективности аэрозольного метода вакцинации при пастереллезе уток, разработка режимов иммунизации против этой инфекции и изучение иммунобиологической реактивности организма уток при указанном методе ее аппликации является важной и актуальной задачей.

Настоящая работа является разделом научной темы: "Физиолого-биохимические и иммунологические реакции птиц при температурном

K

стрессе" (№ гос. регистрации 81003767), а также выполнена в рамках задания № 0.51.09.07 "Разработать и внедрить в производство технологические процессы борьбы с пастереллезом".

Цель и задачи исследований. Основной целью нашей работы являлась разработка и внедрение в промышленное уткуводство аэрозольного метода иммунизации уток против пастереллеза. Для ее осуществления нами решались следующие задачи:

1. Определить физическую и биологическую устойчивость аэрозолей второй вакцины Краснодарской НИВС (из штамма "К") против пастереллеза водоплавающих птиц при использовании различных регидрантов, оптимизацию режимов аэрозолей вакцины "К" с целью использования их для иммунопрофилактики пастереллеза уток.

2. Изучить влияние аэрозолей вакцины против пастереллеза водоплавающих птиц из штамма "К" Краснодарской НИВС на некоторые физиологические функции организма утят.

3. Изучить приживаемость вакцинных пастерелл в организме уток, иммунизированных аэрозольным методом.

4. Определить некоторые биохимические и иммунологические показатели крови вакцинированных уток.

5. Испытать аэрозольный метод иммунизации утят против пастереллеза в производственных условиях.

Научная новизна. Доказана эффективность применения аэрозольного метода иммунизации утят против пастереллеза вакциной "К" в условиях хозяйств.

Изучено действие аэрозолей вакцины "К" Краснодарской НИВС на некоторые физиологические функции организма утят.

Найдены оптимальные регидранты, обеспечивающие физическую и биологическую устойчивость аэрозолей вакцины "К" Краснодарской НИВС.

Установлена иммунизирующая доза, эффективность однократной и двукратной вакцинации аэрозольным методом и длительность иммунитета у уток.

Установлена идентичность иммунологического процесса при внутрисинусном и аэрозольном методах вакцинации уток против пастереллеза вакциной "К" Краснодарской НИВС.

Практическая ценность. В результате выполнения работы определены оптимальные условия аэрозольной иммунизации утят против пастереллеза вакциной "К".

Предложены регидранты для вакцины, состоящие из необезжиренного молока с добавлением 10% глицерина и 10% сахара и необезжирен-

ного молока без добавок, обеспечивающие создание монодисперсного аэрозоля и высокую живучесть вакцинных пастерелл. Испытан аэрозольный метод иммунизации уток с высоким экономическим эффектом на поголовье более 43 миллионов утят.

Материалы исследований положены в основу "Временного наставления по аэрозольной иммунизации утят второй сухой вакциной Краснодарской НИВС (из штамма "К") против пастереллеза водоплавающих птиц", утвержденного Главным управлением ветеринарии МСХ СССР 8 июля 1983 года, в разработке которого автор принимал непосредственное участие.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на заседаниях ученого совета Краснодарской НИВС (1983, 1985 годы), координационных советов ВНИВИП (1983, 1984, 1985 гг.), на краевых семинарах (г. Краснодар) ветеринарных работников (1983, 1984 гг.) на заседании Краснодарского краевого микробиологического общества (1984 г.), на курсах повышения квалификации при Кубанском сельскохозяйственном институте, на заседании ученого совета института биологии Карельского филиала Академии наук СССР (1985 г.).

За разработку аэрозольной вакцинопрофилактики пастереллеза и внедрение ее в широкую практику борьбы с этим заболеванием в районе промышленного разведения водоплавающей птицы в целях повышения рентабельности птицеводства Дубров И.С. в 1984 году награжден бронзовой медалью ВДНХ СССР, а в 1985 году ему присуждена премия Совета Министров СССР

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 научных статей.

Объем работы. Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 23 таблицами. Список литературы включает 147 отечественных и 77 иностранных источников.

Вопросы, выносимые на защиту.

1. Определение физической и биологической устойчивости аэрозолей второй вакцины Краснодарской НИВС (из штамма "К") против пастереллеза водоплавающих птиц при использовании различных регидрантов.

2. Оптимизация режимов аэрозолей вакцины "К" с целью использования их для иммунопрофилактики пастереллеза уток.

3. Влияние аэрозолей вакцины против пастереллеза водоплавающих

птиц из штамма "К" Краснодарской НИВС на иммунобиологические показатели сыворотки крови.

4. Приживаемость вакцинных пастерелл в организме уток, иммунизированных аэрозольным методом.

5. Испытание аэрозольного метода иммунизации утят против пастереллеза в производственных условиях.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В литературном обзоре представлены сведения об истории развития вакцинопрофилактики пастереллеза сельскохозяйственных птиц, использованию аэрозолей для профилактики бактериальных болезней птиц, профилактике пастереллеза птиц аэрозолями вакцин, а также материалы, характеризующие иммунную систему и иммунный ответ на введение антигена у птиц.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в 1977-1985 годах в лаборатории микробиологии Краснодарской НИВС, лаборатории микробиологии института биологии Карельского филиала АН СССР и ряде утководческих хозяйств Краснодарского края.

В опытах использовали уток пекинской породы и Черри-Велли 20-дневного - 6-месячного возраста в количестве 850 голов, завезенных из птицевосхозов "Лебяжий остров" и "Юбилейный" Краснодарского края.

Аэрозольную иммунизацию уток проводили коммерческой второй вакциной Краснодарской НИВС (штамм "К") против пастереллеза водоплавающих птиц с помощью САГ-1, компрессора СО-7А.

Для контрольного заражения уток с целью проверки иммунитета применяли вирулентный штамм *P. multocida* № 712.

В опытах использовали следующие методы исследований:

Определение количества живых вакцинных пастерелл в аэрозоле. Отбор проб аэрозоля производили аспирационно-фильтрационным методом (сорбционным) через мясо-пептонный бульон. Вторую вакцину Краснодарской НИВС против пастереллеза водоплавающих птиц суспендировали в испытываемой среде (10% и 5% глицерин на физрастворе, пептонная вода, физраствор с 10% глицерина и 10% сахара, пастеризованное молоко без добавок, пастеризованное молоко с 10% глицерина и 10% сахара). После суспендирования 15 доз вакцины "К" в 1 мл испытываемой среды ее диспергировали с помощью струйного аэрозольного генератора (1мл на 1 м<sup>3</sup>), затем отбирали пробы аэрозоля сразу после

распыления, через 10 и 30 минут стерильными 5-миллилитровыми шприцами на высоте: нижний ярус - 40 см, средний ярус - 90 см, и верхний ярус - 140 см. Взятые пробы вносили в пробирки с 5 мл бульона Хоттингера. После этого бульон разводили 1:10 и 1:100 и из каждого разведения стерильно проводили посев 0,1 мл содержимого пробирки в чашки Петри на кровяной агар. Чашки инкубировали в термостате при температуре 37° в течение 2-х суток. Результаты учитывали путем подсчета выросших колоний.

Определение размера частиц вакцинного аэрозоля проводили по методу гравитационной седиментации: на слегка подогретое предметное стекло пастеровской пипеткой наносили расплавленную смесь вазелина с соляровым маслом (1:1), которую той же пипеткой равномерно распределяли по поверхности стекла и оставляли в горизонтальном положении на 2-3 минуты для застывания. Сразу после диспергирования вакцины, суспензированной в различных регидрантах, а также спустя 10 и 30 минут подготовленные стекла взмахом руки пронесли через облако аэрозоля. Полученные препараты исследовали под микроскопом с помощью винтового окулярного микрометра МОВ-1-15<sup>X</sup>, определяя на каждом стекле размеры 100 капель.

Определение бактерицидной активности сыворотки крови уток проводили по методу О.В.Смирновой и Т.А.Кузьминой (1966).

В-лизины в сыворотке крови уток определяли ускоренным методом по О.В.Бухарину с соавторами (1972). Метод основан на изменении показателей оптической плотности взвеси тест-культуры в растворе сахарозы при добавлении сыворотки крови уток. В качестве тест-объекта использовали штамм № 83 *Bacillus subtilis*

Комплементарную активность сыворотки крови уток исследовали по методу Г.В.Вагнера (1963). Метод основан на способности комплекса, присоединяясь к комплексу антиген-антитело, вызывать специфический гемолиз сенсibilизированных эритроцитов.

Определение иммуноглобулинов в сыворотке крови утят проводили по методу Г.Манчини (1965).

Сыворотку крови утят на наличие в ней белка исследовали по методу Лоури (1951). Работу проводили на ФЭК-Н-57 с красным светофильтром при длине волны 656 мкм. В качестве стандарта использовали импортный бычий и человеческий альбумин, а также сыворотку крови человека. Все измерения проводили в объеме 0,4 мл исследуемой сыворотки с содержанием 10-100 мкг белка в кювете с толщиной слоя 5 мм.

Проверку наличия иммунитета проводили путем внутримышечного заражения и учета выживших и павших птиц.

Статическую обработку проводили по И.П.Ашмарину, А.А.Воробьеву (1962).

Павших птиц подвергали патологоанатомическому и бактериологическому исследованиям по общепринятым методам.

С целью выяснения оптимальной суспендирующей среды, изучению дисперсности аэрозоля вакцины "К" и расселению вакцинных пастерелл в организме уток провели 91 опыт.

Проведено 388 биохимических, 1832 бактериологических, 1200 микроскопических исследований и 112 патологоанатомических вскрытий.

Производственное испытание аэрозольного метода вакцинации утят против пастереллеза проводили в хозяйствах Краснодарского края на поголовье более 43 миллионов. Результаты производственного испытания оценивали по клиническому состоянию уток и по наличию иммунитета после внутримышечного заражения.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение дисперсности аэрозоля вакцины "К" с различными регидрантами.

Размеры частиц и монодисперсность аэрозоля определяют его эффективность и стабильность. В любой области применения аэрозоли наиболее эффективны при строго определенной величине частиц.

Степень дисперсности аэрозоля вакцины "К" изучали в боксе НИВС по описанной выше методике.

Результаты измерения частиц свидетельствуют о том, что вакцина "К" Краснодарской НИВС против пастереллеза водоплавающих птиц, регидрированная в физиологическом растворе хлористого натрия с 10% глицерина при диспергировании ее в помещении образует полидисперсный аэрозоль, в котором размеры частиц варьируют от 1 до 8 мкм, т.е. в аэрозоле преобладают частицы (97-98%), которые легко проникают в легкие, там задерживаются и принимают участие в иммунологическом процессе. Однако, 2-3% частиц размером от 5 мкм до 8 мкм по объему занимают соответственно 17,11% и 25,34% от общего объема частиц и такой же процент вакцины не принимает участия в иммунизации птиц.

Аэрозоль, состоящий из вакцины "К", регидрированной в кипяченом молоке, профильтрованном через 4 слоя марли, состоит из частиц от 1 до 5 мкм. Его можно характеризовать как монодисперсный.

В нем содержатся частицы, которые легко проникают в легкие и принимают участие в иммунизаторном процессе.

Аэрозоль вакцины "К", регидратированной в необезжиренном кипяченом молоке с 10% сахара, состоит из частиц размером от 1 до 7 мкм. Его можно характеризовать как полидисперсный, в котором преобладают частицы размером от 1 до 5 мкм (89% - 98%), то есть аэрозоль состоит из частиц, легко попадающих, задерживающихся в легких и участвующих в процессе иммуногенеза. Однако, в этом аэрозоле сразу после распыления имеется 11% частиц размером более 5 мкм, которые частично или совсем не попадают в легкие. Эти 11% частиц занимают 33,47% общего объема частиц, и, следовательно, такой же процент вакцины не принимает участия в иммунизаторном процессе.

В аэрозоле вакцины "К", регидратированной в необезжиренном кипяченом молоке с 10% сахара и 10% глицерина преобладают частицы (97%), которые легко проникают в легкие, задерживаются в них и принимают участие в иммунологическом процессе. 3% частиц размером более 5 мкм, которые частично попадают в легкие, занимают по объему 10,44% общего объема всех частиц и такой же процент вакцины не принимает участия в иммунизации птиц.

#### Биологическая устойчивость пастерелл вакцины "К" в аэрозоле с различными регидрантами

Важным условием, обеспечивающим успех при аэрогенной иммунизации, является биологическая устойчивость (выживаемость) живых микроорганизмов в состоянии аэрозоля.

Биологическую устойчивость аэрозоля пастерелл изучали по унифицированной методике создания аэрозоля вакцинного штамма "К". Для этого в каждом кубическом метре помещения диспергировали 15 доз вакцины, взвешенных в 1 мл испытываемого регидранта (1 доза содержит 500 мл, вакцинных пастерелл). Следовательно, в каждом кубометре помещения распыляли 7,5 млрд, вакцинных пастерелл.

Первые опыты по определению количества живых вакцинных пастерелл в аэрозоле показали, что использование физиологического раствора с 10% глицерина для регидратации вакцины позволяет создать аэрозоль с низким количеством живых вакцинных пастерелл в течение 30-минутной экспозиции.

Причинами такого явления могли быть:

- гибель пастерелл вследствие осмотического шока в момент регидратации вакцины;

- гибель микробов в результате механических повреждений при диспергировании;

- гибель пастерелл при дегидратации в облаке аэрозоля.

Для выяснения этих вопросов была проверена вероятность гибели вакцинных пастерелл от осмотического шока при регидратации. С этой целью вакцину регидратировали в физрастворе с 5% и 10% глицерина, в физрастворе с 10% глицерина и 10% пищевого сахара, в пастеризованном молоке без добавок, в молоке с 10% глицерина, в молоке с 10% глицерина и 10% сахара. Затем сразу после внесения вакцины в регидратант, через 10 и 30 минут делали серийные разведения и по 0,1 мл разведений  $10^{-7}$  и  $10^{-8}$  высевали на кровяной агар в чашки Петри. Их инкубировали двое суток при температуре  $37^{\circ}$ .

В течение всего опыта количество живых вакцинных пастерелл в испытываемых регидратантах не уменьшилось, а в молоке с 10% сахара и 10% глицерина и в молоке без добавок даже несколько увеличилось.

Опыт показал, что гибель пастерелл вакцинного штамма "К" происходит не от осмотического шока при регидратации, а в момент диспергирования. В связи с этим дальнейшая работа была направлена на изыскание регидратирующего раствора, который бы защищал пастерелл от гибели в момент диспергирования.

С этой целью были испытаны: пептонная вода, Бульон Хоттингера, 5% и 10% растворы сухого обрат на дистиллированной воде, дистиллированная вода, обычный обрат, молоко, которое использовали после кипячения и фильтрования через 3-4 слоя марли. Все указанные разбавители изучали в чистом виде (без добавок), с 10% глицерина, а также с 10% глицерина и 10% сахара. Результаты учитывали путем подсчета колоний в чашках Петри на кровяном агаре.

Опыты по изысканию наиболее оптимальных регидратантов для вакцины "К" при аэрозольном ее применении показали, что наибольшее количество пастерелл (в убывающем порядке), в аэрозоле сохраняется при диспергировании вакцины, регидратированной в пептонной воде, в кипяченом молоке с 10% сахара и 10% глицерина, в 10%-ном сухом обрате на дистиллированной воде с 10% сахара и 10% глицерина, в бульоне Хоттингера, в кипяченом профильтрованном через 4 слоя марли молоке без добавок, в 2,5%-ном сухом обрате на дистиллированной воде, в обрате с 10% сахара и 10% глицерина, в обрате без добавок, 5%-ном сухом обрате на дистиллированной воде, бульоне Хоттингера с 10% сахара, бульоне Хоттингера с 10% сахара и 10% глицерина, в

молоке с 10% сахара, 2,5%-ном молоке с 10% сахара и 10% глицерина, в обрате с 10% сахара, 10%-ном сухом обрате на дистиллированной воде с 10% сахара, в 2,5%-ном молоке с 10 сахара. Самый низкий показатель установлен при регидратации вакцины в физрастворе с 10% глицерина.

Несмотря на то, что при регидратации вакцины "К" в лептонной воде с последующим диспергированием ее в камере обнаруживали наибольшее количество живых вакцинных пастерелл в аэрозоле, использовать указанный регидратант в условиях хозяйств сложно, так как биофабрики выпускают его в ограниченном количестве для лабораторных исследований. Бульон Хоттингера и сухой обрат использовать в качестве регидратантов в хозяйствах можно, однако они относительно дороги и их выпуск также ограничен.

Таким образом, регидратанты, состоящие из кипяченого профильтрованного через 4 слоя марли молока с 10% сахара и 10% глицерина и молока без добавок, обеспечивали удовлетворительную биологическую устойчивость пастерелл вакцинного штамма "К" в аэрозоле, предохраняя их от гибели и оказались легко доступными для использования в хозяйствах.

В дальнейшем все опыты проводили, используя в качестве регидратанта вакцины "К" молоко с 10% глицерина и 10% сахара, а также молоко без добавок.

Опыты по испытанию различных сред в качестве регидратантов вакцины "К" одновременно показали, что утят в аэрозоле вакцины более 30 минут держать нецелесообразно, так как к этому времени во взвешенном состоянии остается минимальное количество живых вакцинных пастерелл.

#### Определение иммунизирующей дозы второй вакцины Краснодарской НИВС против пастереллеза водоплавающих птиц при аэрозольном ее применении

Исследования проводили в оборудованной в виварии камере объемом 30 м<sup>3</sup> на утятах 30-дневного возраста, которых закольцевали и разбили по принципу аналогов на 5 групп. Утят первой группы вакцинировали аэрозольным методом дозой 500 миллионов вакцинных пастерелл (I доза) в I м<sup>3</sup> камеры.

Утят второй группы иммунизировали при той же экспозиции дозой в 2,5 млрд. вакцинных пастерелл (5 доз) в I м<sup>3</sup> помещения.

Утят третьей группы иммунизировали дозой 5 млрд. микробных тел (10 доз), а утят четвертой группы дозой 7,5 млрд. вакцинных пастерелл

Таблица 3.1.

Результаты заражения утят, иммунизированных аэрозольным методом различными дозами

№ группы утят	Колич. зараженных животных	Доза вакцины при аэрозольной имунизации	На какой день после заражения в среднем пало утят										Итого всего пало	% к ИОЗ		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
1	20	500 млн. вакцинных пастерел в 1 м <sup>3</sup> (1 доза)	-	7	2	2	2	-	-	-	-	-	-	1	12	26,3
2	22	2,5 млрд. вакцинных пастерел в 1 м <sup>3</sup> (5 доз)	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	3	72,7%
3	22	5 млрд. вакцинных пастерел в 1 м <sup>3</sup> (10 доз)	-	4	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	7	54,5%
4	48	7,5 млрд. вакцинных пастерел в 1 м <sup>3</sup> (15 доз)	-	1	1	1	1	-	1	-	-	-	-	-	4	78%
5	22	Контроль	-	6	6	4	4	2	1	-	-	-	-	-	19	-

(15 доз) в  $1 \text{ м}^3$  камеры. Пятая группа утят служила контролем. Через 15 дней после аэрозольной вакцинации птиц всех пяти групп заражали вирулентным штаммом пастереллы № 712 в дозе, соответствующей  $10^{10}$  т.е.  $10^{-7}$  суточной бульонной культуры в 1 мл. Результаты опыта представлены в таблице 3.1.

Как видно из таблицы, оптимальным количеством пастереллы в  $1 \text{ м}^3$  помещения при аэрозолировании вакцины "К" из штаммов Краснодарской НИВС являются 15 доз коммерческой вакцины в  $1 \text{ м}^3$  помещения.

Для исследования противопастереллезного иммунитета при различной концентрации вакцинных пастерелл в  $1 \text{ м}^3$  аэрозоля, как при одно-, так и при двукратной аэрозольной иммунизации были проведены опыты на 62 утятах.

При однократной аэрозольной иммунизации вакциной "К" у утят вырабатывается невосприимчивость к искусственному заражению после вакцинации пятью, десятью и пятнадцатью дозами в  $1 \text{ м}^3$  помещения. Однако, наиболее напряженный иммунитет формируется у них при диспергировании 15 доз в  $1 \text{ м}^3$  помещения. При этом такая устойчивость сохраняется у птиц не менее трех месяцев ( $P \ll 0,01$ ).

После установления иммунизирующей дозы и продолжительности невосприимчивости при однократной вакцинации была определена стойкость иммунитета при двукратной аэрозольной прививке.

С этой целью проведена иммунизация 15-дневных утят, которых прививали двукратно с интервалом в 7 дней, при этом каждый раз распыляли на  $1 \text{ м}^3$  помещения 15 доз второй вакцины "К" при экспозиции 30 минут.

После иммунизации через 4, 5 и 6 месяцев заражали по 10 вакцинированных и по 3 контрольных утки, и установили, что у них формируется напряженный иммунитет продолжительностью 6 месяцев (срок наблюдения).

Распространение и приживаемость пастереллы вакцинного штамма "К" в организме уток после поаэрозольной иммунизации

Для выяснения наличия пастереллоносительства при аэрозольной вакцинации был проведен ряд опытов. В первом из них изучена приживаемость пастереллы в организме уток. После однократной аэрозольной иммунизации через 3, 6 часов, 1, 2, 3, 5, 7, 9 и 10 суток, убивали привитых уток и проводили посевы на МПБ и кровяной агар из сплюска, легких, крови сердца, печени, селезенки и трубчатой кости. Одновременно из этих органов делали мазки - отпечатки и красили их по Романовскому-Гимза. Кровяной агар выдерживали в термостате в течение 2-х суток, после чего учитывали результаты, которые отражены в

таблица 3.2.

Таблица 3.2.

Приживаемость пастерелл штамма "К" в организме уток после аэрозольной вакцинации

Колич. убитых уток	Примеры носителей вакцинации	Результаты высевов из органов					
		синус	легкие	сердце	печень	селезенка	трубчатая кость
2	3 часа	2+	I+	-	-	-	-
2	6 часов	2+	I+	I+	-	-	I+
2	1 сутки	2+	-	-	-	-	-
3	2 суток	2+	I+	-	-	-	-
2	3 суток	2+	-	-	I+	-	-
2	5 суток	I+	I+	I+	-	-	-
5	7 суток	4+	2+	-	I+	I+	-
2	8 суток	-	-	-	-	-	-
2	9 суток	-	-	-	-	-	-
2	10 суток	-	-	-	-	-	-

Примечание: знак + указывает на наличие вакцинных пастерелл в исследуемом материале, а цифра - на количество птиц, от которых они выделены.

Через 6 часов наблюдали наибольшее распространение пастерелл в организме: их находили в синусе, легких, сердце и трубчатой кости.

При микроскопии мазков - отпечатков отмечали наличие пастерелл как свободнoleжащих, так и в ретикулярных клетках в стадии незавершенного фагоцитоза. В дальнейшем в мазках были видны ретикулярные клетки с завершенным фагоцитозом и отдельно лежащие пастереллы, обладающие хорошо развитой капсулой, причем в мазках из синуса их было много, а в мазках из легких - единицы.

Через сутки у убитых уток пастереллы находили только в синусе. На пятые сутки у убитых уток отмечали вторичное заселение организма пастереллами. В это время их выделяли из синуса, легких и сердца. На седьмые сутки у уток пастереллы находили в синусе, и легких, а также по одному случаю в печени и селезенке. Из селезенки пастереллы выделили только один раз за все время исследований (на 7-е сутки после вакцинации).

Постоянное наличие в синусе большого количества вакцинных пастерелл говорит об идентичности иммунного процесса как при аэро-

зольном, так и внутрисинусном методах иммунизации.

Провели опыт по изучению приживаемости вакцинных пастерелл у ревакцинированных уток. Результаты этого опыта отражены в таблице 3.3.

Таблица 3.3.

Приживаемость пастерелл вакцинного штамма "К" в организме уток после аэрозольной ревакцинации

Кол-во убитых уток	Время после ревакцинации	Результаты высевов из органов					
		синус	легкие	сердце	печень	селезенка	трубчатая кость
2	3 часа	2+	2+	-	-	-	-
2	6 часов	2+	1+	-	-	-	-
2	1 сутки	2+	-	-	-	-	-
2	2 суток	1+	1+	-	-	-	-
2	3 суток	2+	1+	-	-	-	-
2	5 суток	-	-	-	-	-	-
2	7 суток	-	-	-	-	-	-
2	9 суток	-	-	-	-	-	-

Как видно из таблицы 3.3 у уток, подвергавшихся аэрозольной ревакцинации, пастереллы выделяли только из синуса и легких и только в течение трех суток. Исследования, проведенные на пятые, седьмые и девятые сутки подтвердили факт полного освобождения организма уток от вакцинных пастерелл.

Таким образом, опыты подтверждают, что в организме уток переживание вакцинных пастерелл происходит в течение короткого периода времени формирования иммунитета и не приводит к длительному пастереллоносительству.

Изучение влияния аэрозолей вакцины из штамма "К" на некоторые физиологические функции организма утят

С этой целью провели лабораторный опыт на 75 утятах 30-дневного возраста, разбитых по принципу аналогов на 3 группы. Одну группу привили аэрозольным методом, вторую - в синус согласно действующему наставлению, третью группу не прививали (контроль).

Интенсивность роста живой массы утят приведена в таблице 3.4.

Как видно из таблицы 3.4, у утят первой и третьей группы средняя живая масса утенка в первые пять дней после вакцинации находи-

Таблица 3.4.

Интенсивность роста утят после вакцинации их аэрозольным и внутрисинусным методами

№ групп	Коллич. утят в группе	Живая масса птиц (в г)			
		перед вакцинацией	через 5 дней после вакцинации	через 10 дней после вакцинации	через 15 дней после вакцинации
1	25	859	999	1144	1290
2	25	860	981	1120	1270
3	25	857	997	1145	1295

лась на одинаковом уровне, что свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния аэрозольной иммунизации на утят. У птиц второй группы живая масса в первые пять дней после внутрисинусной вакцинации в среднем была меньше, чем в первой и третьей группах на 16-18 граммов.

Одновременно с интенсивностью роста определяли общее состояние уток до вакцинации и после нее путем измерения температуры тела, а также учета потребления корма и воды. Установили, что в первые два дня после прививки у вакцинированных утят отмечено небольшое повышение температуры тела, не превышающее верхней границы нормы, снижение поедаемости корма и увеличение потребления воды.

Таким образом, вакцина против пастереллеза водоплавающих птиц из штамма "К" Краснодарской НИВС при аэрозольном применении отрицательно не влияет на физиологические функции организма уток.

Изучение факторов неспецифической резистентности организма утят и определение некоторых биохимических и иммунологических показателей сыворотки крови

С целью изучения уровня показателей факторов неспецифической резистентности исследовали сначала сыворотку крови от невакцинированных утят на наличие в ней лизоцима,  $\beta$ -лизинов, комплементарной активности (КАС) и бактерицидной активности (БАС), а затем после вакцинации через 2, 8 и 11 дней провели такие же исследования.

Аэрозольная иммунизация во всех случаях приводила к активизации факторов естественной резистентности, причем наиболее заметно происходило увеличение бактерицидной активности сыворотки. Уже через двое суток после вакцинации бактерицидная активность повы-

силась с 28,0 до 89,0 и в дальнейшем на протяжении II дней (срок наблюдения) отмечено лишь незначительное ее снижение.

Ответная реакция на вакцину сопровождалась и увеличением уровня  $\Delta$ -лизинов, который возрастал через двое суток после иммунизации с 19,35 до 28,8, однако уже через 8 суток этот показатель возвращался к исходному значению и в дальнейшем колебался в незначительных пределах.

Активность лизоцима в отличие от первых двух показателей увеличилась постепенно и достигала максимальной величины  $15,5 \pm 1,28$  (против  $7,08 \pm 1,02$  до вакцинации) на 8-е сутки опыта. На II день этот показатель снизился до  $10,3 \pm 1,67$ .

Медленнее всех предыдущих показателей повышалась комплементарная активность сыворотки. Несмотря на относительно низкий уровень комплемента у птиц, он постепенно возрастал с  $2,34 \pm 0,71$  до  $16,31 \pm 2,24$  к II дню опыта.

Таким образом, вакцина "К" при аэрозольном применении вызывает у утят повышение в крови факторов неспецифической резистентности, что позволяет активизировать конституциональный иммунитет и обеспечить формирование напряженного специфического иммунитета против пастереллеза.

Проведены исследования по определению белкового спектра сыворотки крови с целью выделения иммуноглобулинов классов А и М у 18-, 35-, 45- и 60-дневных утят, так как между напряженностью иммунитета и уровнем иммуноглобулинов существует определенная корреляция.

При этом установили наличие общего белка в сыворотке крови утят в следующих количествах:

- у 18-дневных -  $17,6 \text{ мг/мл} \pm 6,8 \text{ мг/мл}$ ,
- у 35-дневных -  $32 \text{ мг/мл} \pm 8 \text{ мг/мл}$ ,
- у 45-дневных -  $32,4 \text{ мг/мл} \pm 9,3 \text{ мг/мл}$ ,
- у 60-дневных -  $38,4 \text{ мг/мл} \pm 4 \text{ мг/мл}$ .

Имуноглобулинов класса А:

- у 18-дневных -  $0,45 \text{ мг/мл} \pm 0,22 \text{ мг/мл}$ ,
- у 35-дневных -  $0,52 \text{ мг/мл} \pm 0,34 \text{ мг/мл}$ ,
- у 45-дневных -  $0,39 \text{ мг/мл} \pm 0,11 \text{ мг/мл}$ ,
- у 60-дневных -  $0,25 \text{ мг/мл} \pm 0,15 \text{ мг/мл}$ .

Имуноглобулинов класса М:

- у 18-дневных -  $0,62 \text{ мг/мл} \pm 0,33 \text{ мг/мл}$ ,
- у 35-дневных -  $1,15 \text{ мг/мл} \pm 0,96 \text{ мг/мл}$ ,
- у 45-дневных -  $0,82 \text{ мг/мл} \pm 0,32 \text{ мг/мл}$ ,

Библиотека  
СамСХИ  
ИНВ. № - 12963

у 60-дневных - 0,54 мг/мл  $\pm$  0,13 мг/мл.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что наличие общего белка в сыворотке крови вакцинированных утят против пастереллеза аэрозольным методом имеет тенденцию роста в соответствии с возрастом и продолжительностью поствакцинального периода, а наличие иммуноглобулинов классов А и М через 15 дней после вакцинации резко возрастает, но к 60-дневному возрасту становится ниже уровня невакцинированных утят.

Изучение динамики различных классов иммуноглобулинов и общего белка у уток показало, зависимость гуморального ответа у птиц от введения антигена (вакцины "К"). Так, уровень общего белка весьма важен как показатель, отражающий основные закономерности белкового синтеза в организме.

#### Испытание аэрозольного метода иммунизации утят против пастереллеза в производственных условиях

На основании результатов проведенных исследований были проведены производственные испытания аэрозольного метода вакцинации утят против пастереллеза в птицеводстве "Лоблий остров", в колхозах "Кубань" и "Россия", где привито 618910 утят 25-30-дневного возраста и после этого разработаны рекомендации по аэрозольной иммунизации птиц вакциной "К" Краснодарской НИВС в порядке производственного опыта в крае, которые были одобрены ветеринарным отделом краевого управления сельского хозяйства. Они явились основанием к применению вакцины в производственных условиях.

С целью контроля стойкости и длительности иммунитета через разные сроки (через 10, 77 и 120 дней) после вакцинации из хозяйства, где проводили производственные испытания аэрозольного метода, в лабораторных условиях подвергали заражению группы вакцинированных и контрольных утят. Зараженные через 10 дней после вакцинации утята все остались живы; у зараженных через 77 дней после вакцинации утят коэффициент иммунологической эффективности составил 70%; у зараженных через 120 дней - 70%.

Во всех случаях контрольные утята погибали в течение 24-72 часов после заражения.

Установленная нами концентрация 7,5 млрд. микробных тел в 1 м<sup>3</sup> помещений, не вызвала у уток видимых изменений в состоянии их здоровья. Птицы легко переносили иммунизацию. Патоморфологических изменений дыхательных путей, пищеварительного тракта и конъю-

инктивы не отмечено.

Метод иммунизации простой, нетрудоемкий, не вызывает стресса у птиц.

Таким образом, результаты проверки напряженности иммунитета свидетельствовали об эффективности аэрозольного метода иммунизации утят против пастереллеза, проведенного в условиях производства, что коррелирует с результатами лабораторных опытов.

За период с 1979 по 1985 годы в хозяйствах Краснодарского края привито более 43 миллионов утят, среди которых не наблюдали поствакцинальных осложнений и было достигнуто благополучие поголовья по пастереллезу.

По результатам исследований и производственного испытания метода аэрозольной иммунизации уток против пастереллеза 8 июля 1983 года Главное Управление ветеринарии МСХ СССР утвердило "Временное наставление по аэрозольной иммунизации утят сухой второй вакциной Краснодарской НИВС (из штамма "К") против пастереллеза водоплавающих птиц".

При подсчете экономической эффективности установлено, что на каждую утку, привитую однократно аэрозольным методом, эффект составляет 4,1 копейки, что видно из таблицы 3.5.

Таблица 3.5.

Расчет экономической эффективности

	!Внутрисинусный !метод вакцинации	!Аэрозольный метод !вакцинации
Количество утят	73000	73000
Количество вакцинаторов	21,8	2
Их заработная плата в день	93 руб.74 коп.	8 руб.60 коп.
Расход вакцины	73000 доз	254800 доз
Стоимость вакцины	119 руб.	414 руб.
Количество павших	160 гол.	70 гол.
Стоимость павших	136 руб.	59 руб.50 коп.
Недополучено среднесуточных привесов за 5 дней после вакцинации	2356 кг	-
Стоимость привеса	3133 руб.48 коп.	-
Итого сумма затрат	3482 руб.22 коп.	482 руб.10 коп.

На основании широких производственных испытаний метода аэрозольной вакцинации уток против пастереллеза и экспериментальных

исследованиями можно заключить, что этот метод иммунизации удобен, безвреден и эффективен. Он исключает травмирование уток и не влияет на их продуктивность, значительно сокращая затраты труда, экономически оправдан, позволяет обрабатывать одновременно большое количество птиц и является перспективным для использования в условиях крупных птицеводческих комплексов.

#### 4. В В О Д Н

1. Пастереллез птиц в Краснодарском крае имеет значительное (более 30 неблагополучных пунктов ежегодно) распространение и наносит ощутимый экономический ущерб, обусловленный падежом, вынужденным убоем птиц, снижением продуктивности, затратами на проведение ветеринарно-санитарных мероприятий по ликвидации вспышек заболевания.

2. Аэрозольный метод иммунизации уток вакциной "К" Краснодарской НИВС против пастереллеза водоплавающих птиц безвреден, экономичен, не вызывает стрессов, создает напряженный и длительный иммунитет, не угнетает факторы неспецифической резистентности. При этом значительно повышает производительность труда, снижает поствакцинальный отход по сравнению с внутрисинусным методом вакцинации на 0,2 - 0,3 %.

3. После однократной аэрозольной иммунизации пастереллы вакцинного штамма "К" в организме уток переживают в течение 7 дней, а на восьмые сутки птицы полностью освобождаются от них. При ревакцинации пастереллы в организме уток обнаруживаются в течение первых трех суток и только в лицевом синусе и в легких.

4. При двукратной аэрозольной иммунизации молодняка уток с интервалом в 10 дней вакциной "К" Краснодарской НИВС из расчета 7,5 млрд вакцинных пастерелл (15 коммерческих доз) в 1 м<sup>3</sup> помещения и экспозиции 30 минут коэффициент иммунологической эффективности составляет 90%. При этом напряженность и длительность иммунитета сохраняется более 6 месяцев.

5. Наиболее оптимальными регидрантантами для создания аэрозоля вакцины "К" Краснодарской НИВС против пастереллеза водоплавающих птиц является обезжиренное молоко с добавлением 10% сахара и 10% глицерина, а также молоко без добавок.

6. За период с 1979 по 1986 годы в хозяйствах Краснодарского края иммунизировано против пастереллеза вакциной "К" аэрозольным методом более 43 миллионов уток. Экономический эффект на каждую многократно привитую утку составил 4,1 копейки.

## 5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В процессе работы над темой диссертации обоснованы и разработаны:

1. Метод аэрозольной иммунизации утят против пастереллеза вакциной "К" Краснодарской НИВС.
2. Утверждено ГУВ МСХ СССР 8 июля 1983 года "Временное наставление по аэрозольной иммунизации утят сухой второй вакциной Краснодарской НИВС (из штамма "К") против пастереллеза водоплавающих птиц" (в порядке производственного опыта в 1983-1986 г.г.).

МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ ОПУБЛИКОВАНЫ В СЛЕДУЮЩИХ РАБОТАХ:

1. Капитанки М.В., Скоробогатченко И.В., Дубров И.С., Применение сухих вакцин пастереллеза птиц из штаммов "АВ" и "К" //Ветеринария, 1964. - № 10. -С.32-33.
2. Дубров И.С. Опыт борьбы с пастереллезом птиц в хозяйствах Краснодарского треста "Птицепром". //Сб.научных работ СКЗНИИ. -Болезни птиц. -Новочеркасск, 1977. -С.41-44.
3. Мурый А.А., Бибииков Ф.А., Сажнев В.Н., Дубров И.С. Оздоровление от пастереллеза водоплавающих птиц. //Ветеринария, 1979. - № 7. -С.42-41.
4. Мурый А.А., Сажнев В.Н., Дубров И.С., Бибииков Ф.А. Оздоровление от пастереллеза водоплавающей птицы. //Птицеводство, 1979. - № 3. -С.40.
5. Ищенко Г.Д., Дубров И.С. Аэрозольный метод иммунизации уток против пастереллеза. //Ветеринария, 1982. -№ 8, -С.31.
6. Дубров И.С., Ищенко Г.Д., Матрос А.А. Зависимость биологической устойчивости вакцины в аэрозоле от состава регидранта. //Ветеринария, 1984. -№ 5. -С.32-34.
7. Ищенко Г.Д., Дубров И.С.. Пастереллез уток и гусей. //Птицеводство, 1983. -№ 12. - С.23-24.
8. Дубров И.С., Ищенко Г.Д. Иммунопрофилактика пастереллеза уток аэрозолями вакцины "К" Краснодарской НИВС. //Тезисы докладов к научно-производственной конференции "Система мероприятий по обеспечению эпизоотического благополучия и рентабельности птицеводческих предприятий". -Ломоносов, 1985. -Ч.2. -С.67-69.

Подписано к печати 21.10.87. Е - 00810.  
Формат 60 x 84 1/16. Бумага офсетная.  
Офсетная печать. 1,0 уч.-изд.л.  
1,0 усл.печ.л. Тираж 100 экз.  
Заказ № 283. Бесплатно.

РИО Петрозаводского государственного  
университета им. О.В.Куусинена  
ОКМП ПГУ.  
Петрозаводск, пр.Ленина, 33.