

стиям «Ветеринарная медицина», «Ветеринарная санитария и экспертиза», «Ветеринарная фармация» / В. В. Максимович. – Минск : ИВЦ Минфина, 2015. – 462 с. – Библиогр.: с. 455–457. 7. Нетрусов, А. И. Микробиология : учебник для студентов вузов, обучающихся по направлению подготовки бакалавра «Биология» и биологическим специальностям / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – 2-е изд., стер. – Москва : Академия, 2007. – 350 с. : ил. 8. Петров, В. Н., Асланян, Е. М., Исангалин, Ф. Ш. // Проблемы создания и применения микробиологических средств защиты растений : тезисы докладов Всесоюзной конференции, (16–18 мая 1989 г., Велегож) / ВНИИ прикладной микробиологии. – Москва, 1989. – Ч. 1. – С. 91. 9. Преображенская, Е. И. Классификация бактерий по радиочувствительности с эволюционных позиций / Е. И. Преображенская // 1 Всесоюзный радиобиологический съезд, Москва, 21–27 августа 1989 : тезисы докладов / Академия наук СССР, Научный центр биологических исследований. – Пушкино, 1989. – Т. IV. – С. 1006–1007. 10. Преображенская, Е. И. Классификация грибов по радиоустойчивости с эволюционных позиций / Е. И. Преображенская // 1 Всесоюзный радиобиологический съезд, Москва, 21–27 августа 1989 : тезисы докладов / Академия наук СССР, Научный центр биологических исследований. – Пушкино, 1989. – Т. IV. – С. 1007–1008. 11. Экология микроорганизмов : учебник для студентов университетов, обучающихся по спец. «Микробиология» и другим биологическим спец. / А. И. Нетрусов [и др.] ; ред. А. И. Нетрусов. – Москва : Академия, 2004. – 272 с. : ил. 12. Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. В. Максимович [и др.] ; ред. В. В. Максимович. – Минск : ИВЦ Минфина, 2012. – 775 с. : фото. – Библиогр.: с. 768–770.

Статья передана в печать 06.01.2017 г.

УДК 619:579.842.14.843.95:615.371

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЫВОРОТКИ МОЛОКА В КАЧЕСТВЕ СЫРЬЯ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ

Медведев А.П., Алешкевич В.Н., Даровских С.В., Меньшикова В.М.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Показана возможность приготовления пригодных питательных сред из сыворотки молока для культивирования сальмонелл. **Ключевые слова:** питательные среды, лактопептон, сальмонеллы, сырье, тест-культуры, бактерии, штаммы.

USE OF WHEY AS AN INGREDIENT FOR CULTURE MEDIUM PRODUCTION AND CULTIVATION OF SALMONELLA

Medvedev A.P., Aleshkevich V.N., Darovskykh S.V., Menshikova V.M.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The possible way of producing feasible media for salmonellae bacteria cultivation using whey has been worked out. **Keywords:** culture medium, lactopeptone, salmonellae, raw materials, test culture, bacteria, strains.

Введение. Микроорганизмам, как и всем живым существам, присуща такая жизненно необходимая функция, как питание. В процессе питания бактерии получают вещества, нужные для синтеза клеточных компонентов и осуществления всех процессов жизнедеятельности в микробной клетке. В условиях лабораторий для культивирования микроорганизмов применяют искусственные питательные среды. Они нужны для изучения биологических свойств микробов, выделения чистой культуры, постановки лабораторного диагноза, хранения и поддержания ценных производственных и музейных штаммов, санитарно-бактериологической оценки качества воды, продуктов питания для людей, кормов для животных и других целей.

Решение многих научно-исследовательских и практических задач в ветеринарии и медицине тесно связано с вопросами получения питательных сред и культивирования микроорганизмов.

Важнейшей задачей ветеринарной науки и практики является профилактика инфекционных болезней животных, в том числе сальмонеллеза. Главную роль в деле предупреждения и ликвидации упомянутой болезни отводят применению биопрепаратов. Однако для их производства требуется огромное количество питательных сред, особенно жидких. Для промышленного культивирования большинства видов бактерий применяют бульон Хоттингера, который готовят из качественного говяжьего мяса, пригодного в пищу людям, что экономически не выгодно [8, 9, 10].

Поэтому в микробиологии велись и проводятся работы по поиску и применению различного непившего сырья для получения из него гидролизатов и приготовления на их основе питательных сред для выращивания микроорганизмов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

В этой связи целью нашей работы явилось использование сыворотки молока в качестве сырья для приготовления питательных сред, предназначенных для культивирования сальмонелл.

Материалы и методы исследований. В экспериментах использовали лактопептон, который получали путем гидролиза сыворотки молока – отхода молочной промышленности при производстве сыра и творога. Известно, что при приготовлении этих продуктов в сыворотке молока остается до 1,5% полноценного

белка. Поэтому мы закисляли сыворотку, что приводило к осаждению белковой массы, которую разводили водой в соотношении 1:1 и расщепляли воздействием протеолитических ферментов. В результате протеолиза удалось получить гидролизат, который по биохимическим показателям был сходным с переваром Хоттингера, получаемым из говяжьего мяса, т.е. содержал 800-1200 мг% общего азота, 700-900 мг% аминного азота, 150-200 мг% триптофана. Полученный гидролизат представлял собой жидкий лактопептон, который имел характерный специфический запах, был светло-желтого цвета, хорошо смешивался с водой, концентрация водородных ионов его составляла 6,5-6,8.

С использованием лактопептона нами было приготовлено три варианта питательных сред: первый – в 0,5%-ном растворе хлористого натрия 1% лактопептона, второй содержал 2% и третий – 3% лактопептона. Кроме этих сред в качестве контроля использовали обычный мясо-пептонный бульон.

С помощью 10%-ного раствора натрия гидроксида доводили рН сред до 7,4-7,6, а затем стерилизовали их в автоклаве при 1 атм. в течение 30 минут. Стерильность сред определяли общепринятым в микробиологической практике способом.

Кроме жидких питательных сред нами были приготовлены плотные и полужидкие среды, в которых устанавливали определенное значение рН, стерилизовали, контролировали их стерильность и применяли в опытной работе.

Приготовленные питательные среды подвергали визуальному, физико-химическому и биологическому контролю.

Объективную оценку пригодности питательных сред для культивирования тест-штаммов микроорганизмов и производственных штаммов сальмонелл проводили по следующим критериям:

- чувствительности сред;
- скорости роста тест-штаммов микроорганизмов при засеве ими испытуемых сред;
- концентрации бактерий, выращенных в опытных средах;
- тинкториально-морфологическим свойствам выращенных тест-микроорганизмов;
- характеру роста и степени диссоциации бактерий на плотных питательных средах;
- степени диссоциации бактерий в процессе семикратного пассирования через питательные среды.

В экспериментальной работе были задействованы вакцинные штаммы сальмонелл: *S. choleraesuis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373.

Биологический контроль питательных сред проводили с использованием тест-микроорганизмов *Escherichia coli*, *Corinebacterium diptheroides*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*.

Для определения чувствительности и скорости роста штаммов микроорганизмов их выращивали на плотной питательной среде, смывали физраствором, готовили взвесь с содержанием 1 млрд м.т. в 1 см³. Затем из этой взвеси делали десятикратные разведения и производили засев из разведений 10⁻⁵-10⁻⁸ на плотную, жидкую и полужидкую питательные среды. Среды считали качественными в отношении чувствительности в случае появления роста в чашках и пробирках, засеянных культурой тест-штамма, разведенной не менее, чем 10⁻⁵. Скорость роста бактерий определяли для каждого разведения взвеси через 12-24-48 часов выдерживания, в термостате плотных и через 3, 6, 9 и т.д. до 48 часов жидких и полужидких сред.

Концентрацию биомассы определяли с помощью стандарта мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Об эффективности жидких питательных сред судили по концентрации микробных клеток через 20-24 часа инкубации их в термостате. При проведении опытов по определению пригодности питательных сред для культивирования тест-штаммов микроорганизмов и сальмонелл в качестве контроля применяли среды, приготовленные на основе гидролизатов из качественного говяжьего мяса.

Характер роста тест-штаммов микроорганизмов и сальмонелл определяли визуально. При просмотре жидких сред выявляли интенсивность их помутнения, изменение цвета, наличие осадка, поверхностной пленки, пристеночного кольца. Выросшие на плотной питательной среде колонии характеризовали по величине, форме, прозрачности, контуру края, рельефу поверхности, цвету, структуре и консистенции.

Чистоту культур тест-штаммов бактерий и сальмонелл проверяли микроскопией препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Подвижность бактерий определяли путем посева уколом в полужидкий агар с последующим визуальным просмотром этой среды.

Сахаролитическую активность сальмонелл определяли путем засева чистых культур в жидкие среды Гисса, содержащие различные сахара.

Патогенность сальмонелл определяли на белых мышах массой 16-18 г.

Результаты исследований. В результате проведенной опытной работы было установлено следующее. Приготовленные среды из непищевого сырья – сыворотки молока оказались высокочувствительными, т.е. давали видимый рост на плотных, в жидких и полужидких средах, в пробирках и чашках Петри при посеве тест-микроорганизмов в разведении 10⁻⁵ и 10⁻⁶.

Скорость роста на плотных питательных средах характеризовалась появлением визуально определяемых колоний в пробирках на скошенном агаре и в чашках Петри через 15-18 часов инкубации сред в термостате. В жидких и полужидких питательных средах в пробирках видимый рост появлялся после выдерживания их в термостате в течение 10-12 часов, т.е. скорость роста в этих средах была более высокой, чем на плотных питательных средах.

Эффективность жидких питательных сред определяли по концентрации микробных тел спустя 20-24 часа инкубации их в термостате. Концентрация тест-штаммов микроорганизмов, выращенных в жидких средах, представлена в таблице 1 (в единицах оптической плотности).

Таблица 1 - Концентрация бактерий, выращенных в жидких средах

Среды, содержащие	Наименование тест-штаммов микроорганизмов			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Corinebacterium diptheroides</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
1% лактопептона	0,30±0,1	0,41±0,2	0,44±0,1	0,31±0,1
2% лактопептона	0,48±0,1	0,43±0,2	0,46±0,1	0,32±0,1
3% лактопептона	0,47±0,1	0,42±0,2	0,45±0,1	0,31±0,1
МПБ (контрольная среда)	0,47±0,2	0,44±0,1	0,47±0,1	0,31±0,2

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что жидкая среда, содержащая 2% лактопептона, по эффективности не уступает контрольной среде, полученной из говяжьего мяса.

Среда, содержащая 1% лактопептона, не обеспечивает максимального накопления бактериальных клеток. Среда, содержащая 3% лактопептона, не приводит к интенсификации роста микроорганизмов. Следовательно, среда, содержащая 2% лактопептона, обладает максимальной ростообеспечивающей способностью, что определило выбор ее при проведении дальнейшей опытной работы, т.е. культивировании вакцинных штаммов сальмонелл.

Из культур каждой среды приготавливали препараты-мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали. Исследованные тест-штаммы микроорганизмов по тинкториально-морфологическим признакам отвечали соответствующему роду и виду, т.е. стафилококки и стрептококки представляли собой грамположительные шаровидные бактерии, коринебактерии и колибактерии – палочковидные бактерии, но коринебактерии окрашивались грамположительно, а колибактерии – грамотрицательно.

Пассирование через жидкие питательные среды вызывало незначительную диссоциацию бактерий, что проявлялось образованием на поверхности плотной питательной среды до 5% колоний в R-форме.

Бактерии тест-штаммов *S. aureus*, *Str. faecalis*, *C. diptheroides* были неподвижными, *E. coli* - подвижными.

В биохимическом отношении микроорганизмы тест-штаммов были полноценными, т.к. обладали биохимической активностью, присущей видовой принадлежности каждого тест-штамма.

Результаты определения биологических свойств тест-штаммов бактерий позволяют утверждать, что среды, приготовленные из непищевого сырья - молочной сыворотки, пригодны для культивирования микроорганизмов.

Следующим этапом нашей работы явилось культивирование сальмонелл в средах, приготовленных из сыворотки молока.

Из выращенных культур вакцинных штаммов сальмонелл готовили препараты-мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали. В поле зрения светового микроскопа сальмонеллы представляли собой темно-малинового цвета палочки, которые располагались одиночно, попарно, короткими цепочками и скоплениями неопределенной формы.

Рост сальмонелл в жидкой питательной среде характеризовался равномерным помутнением ее с образованием значительного слизистого осадка. Концентрация сальмонелл в опытной среде составила в отношении *S. choleraesuis* 370 – 0,48±0,1, *S. typhimurium* 371 – 0,47±0,1, в отношении *S. dublin* 373 – 0,46±0,1, а в контрольной – в отношении всех серовариантов бактерий в среднем 0,47±0,1 единицы оптической плотности, т.е. опытная среда обладает практически такой же ростообеспечивающей способностью, что и контрольная.

На мясо-пептонном агаре сальмонеллы формировали хорошо заметные невооруженным глазом прозрачные с ровными краями колонии с голубоватым оттенком, диаметром от 2 до 4 мм.

При посеве культуры сальмонелл уколом в полужидкий агар наблюдали рост бактерий в виде серо-белого стержня по уколу и помутнение всей среды в пробирке, что свидетельствовало об их подвижности.

Биохимические свойства сальмонелл характеризовались их способностью расщеплять маннит и глюкозу с образованием газа. При ферментации глюкозы наблюдали выделение газа. Бактерии не ферментировали сахарозу, лактозу, адонит, салицин. Они не образовывали индол, сероводород.

Патогенность культур, выращенных на опытной среде, определяли на 5 белых мышках массой 16-18 г. Животным вводили подкожно бульонную культуру сальмонелл в дозе 0,5 см³. Мыши погибли через 24-48 часов, что свидетельствует о патогенности сальмонелл, выращенных в опытной среде.

Заключение. В результате проделанной экспериментальной работы нам удалось приготовить путем гидролиза непищевого сырья - сыворотки молока (отход производства сыра и творога) - гидролизаты, которые по биохимическим показателям были равнозначными гидролизатам, получаемым из ценного пищевого продукта - говяжьего мяса.

Из опытных гидролизатов были приготовлены жидкие, полужидкие и плотные питательные среды, которые использовались для культивирования производственных штаммов *S. choleraesuis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373.

Выращенные бактерии по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и патогенным свойствам были характерными для рода *Salmonella*, что подтверждается изучением их биологических свойств.

Следовательно, считаем возможным приготовление качественных питательных сред из сыворотки молока для культивирования вакцинных штаммов сальмонелл.

Литература. 1. Изучение возможности использования гидролизатов, полученных из отходов биопредприятия / Н. А. Ашикбаев [и др.] // Передовой научно-производственный опыт в биологической промышленности : экспресс-информация. – 1978. – № 4. – С. 12–13. 2. Использование отходов сывороточного производства при культивировании пастерелл / Л. С. Куршудянец [и др.] // Передовой научно-производственный опыт в биологической промышленности : экспресс-информация. – 1981. – № 5. – С. 31–33. 3. Булашова, Л. А. Биологические показатели роста тест-штаммов микроорганизмов в среде с лактопептоном / Л. А. Булашова, С. П. Сергеева // Сборник научных трудов / ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 51–54. 4. Злобина, Ш. И. Использование некондиционных перепелиных яиц для изготовления гидролизата / Ш. И. Злобина, И. А. Ашикбаева, И. М. Миронова // Контроль качества химиотерапевтических препаратов : сборник научных трудов / ВГНКИ. – Москва, 1987. – С. 53–56. 5. Простяков, А. П. Лактопептон, его свойства и применение / А. П. Простяков, С. П. Сергеева, Л. А. Булашова // Ветеринария. – 1990. – № 3. – С. 60–62. 6. Гидролизат белков сыворотки молока для питательных сред клеточных культур / А. П. Простяков [и др.] // Ветеринария. – 1990. – № 7. – С. 67–69. 7. Заерко, В. И. Производство живых вакцин против сальмонеллеза животных на питательных средах из непищевого сырья : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / В. И. Заерко ; Всероссийский государственный НИИ контроля стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов. – Москва, 1996. – 18 с. 8. Получение белковых гидролизатов из мяса волов-производителей гипериммунных сывороток / А. П. Медведев [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2002. – Т. 38, ч. 1. – С. 91–92. 9. Медведев, А. П. Питательная среда для культивирования пастерелл / А. П. Медведев, В. М. Жаков, А. А. Вербицкий // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 167–168. 10. Вербицкий, А. А. Питательные среды и культивирование микроорганизмов / А. А. Вербицкий, А. П. Медведев ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 236 с. : ил.

Статья передана в печать 16.12.2016 г.

УДК 619:616.72-002.78:636.5.034.

МОНИТОРИНГ МОЧЕКИСЛОГО ДИАТЕЗА (ПОДАГРЫ) В ПРОМЫШЛЕННОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ

*Насонов И.В., **Милоста О.В., *Кныш Н.В.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

**УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Республика Беларусь

В статье приведены данные по мониторингу мочекислового диатеза в промышленном птицеводстве Беларуси. Показано, что мочекислый диатез широко распространен в промышленном птицеводстве яичного и мясного направления на фоне низкой эффективности лечебно-профилактических мероприятий при этом заболевании. Сезонных закономерностей в заболеваемости подагрой не отмечено. **Ключевые слова:** мочекислый диатез, подагра, куры, диагностика, мониторинг.

MONITORING OF UREA-SILICATE DIATHESIS (GOUT) IN INDUSTRIAL POULTRY FARMING

*Nasonov I.V., **Milosta O.V., *Knysh N.V.

*Institute of Experimental Veterinary Sciences. S.N. Vysheski, Minsk, Republic of Belarus

**Grodno State Agrarian University, Grodno, Republic of Belarus

The article presents data on monitoring of urine acid diathesis in industrial poultry farming in Belarus. It is shown that urate diathesis is widespread in industrial poultry farming of egg and meat directions against the backdrop of low effectiveness of therapeutic and prophylactic measures in this disease. Seasonal patterns in the incidence of gout were not noted. **Keywords:** urine acid diathesis, gout, chickens, diagnostics, monitoring.

Введение. Мочекислый диатез (от греческого *diathesis* - предрасположение) – заболевание, характеризующееся повышенным образованием и накоплением мочевой кислоты и ее солей в крови (гиперурикемия) с последующим отложением кристаллов мочевой кислоты и аморфного мочекислового натрия в различные органы и ткани [1, 5, 7].

В отличие от млекопитающих, у которых азотистый обмен завершается в основном мочевиной, у птиц конечным продуктом азотистого обмена является мочевая кислота. С учетом этих особенностей следует отметить, что механизм развития заболеваний мочевыводящей системы на биохимическом уровне в значительной степени может быть связан с системными нарушениями азотистого и кальций-фосфорного обменов, а также нарушениями гормонального статуса птиц [1, 3, 7, 9].

Патогенез находится в прямой зависимости от концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови. Уровень выше 360 мкмоль/л — показатель отложения солей этой кислоты на серозных оболочках [2, 4].