Заключение. Нами установлено, что производственные штаммы сальмонелл и пастерелл отвечали паспортным данным и были типичными по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам соответствующим видам и сероварантам семейтсв Enterobacteriaceae и Pasteurellaceae.

Для культивирования сальмонелл и пастерелл был приготовлен бульон Хоттингера из говяжьего мяса II категории и непищевого сырья – говяжьего мяса, подлежащего утилизации. При выращивании бактерий в питательных средах, приготовленных из различного сырья, концентрация их оказалась практически одинаковой. Это свидетельствует о возможности приготовления питательных сред из непищевого сырья и использования их в практике культивирования сальмонелл и пастерелл.

Из культур бактерий, выращенных в различных средах и инактивированных формалином, был сконструирован сальмонеллезно-пастереллезный антиген, который проконтролирован на стерильность, безвредность и активность.

Антиген опытных серий №1 и №2 оказался стерильным и безвредным.

Бактерии (S. dublin, S. typhimurium и P. multocida), входящие в состав антигена, выращенные в бульоне Хоттингера, приготовленном из непищевого сырья, не утрачивали своей иммуногенности и вызывали в организме мышей формирование иммунитета такого же уровня, что и бактерии, выращенные в бульоне, полученном из качественного говяжьего мяса II категории.

Антиген серии №2, так же как антиген серии №1, признан нами пригодным для гипериммунизации волов-продуцентов лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота.

Таким образом, проведенная опытная работа свидетельствует о возможности приготовления стерильного безвредного и активного сальмонеллезно-пастереллезного антигена из производственных штаммов сальмонелл и пастерелл, выращенных в питательной среде полученной из непищевого сырья.

Литература: *1. Афанасенко, В.И. Меры борьбы и профилактики при ассоциативных инфекциях животных/ В.И. Афанасенко, А.П. Красиков// Актуальные проблемы инфекционных, паразитарных и незаразных болезней домашних животных и меры борьбы с ними: сборник научных трудов. - Омск, 1998.-С.24-26. 2. Ленев, С.В. Профилактика и диагностика болезней сельскохозяйственных животных /С.В. Ленев, Ю.А. Малахов, В.В. Шорохов //Сборник научных трудов ВГНКИ. - Москва, 2001.-Т.62.-С.52-57. 3. Панин, А.Н. Состояние и перспективы совершенствования специфической профилактики пастереллёза животных/ А.Н. Панин, Р.В. Душук // Сборник научных трудов/ Всероссийский государственный научно-исследовательский институт контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов – Центр качества вет. препаратов и кормов. –Москва, 2001. –Т.62.-С.27-38.*

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:616.98.579:573

СПОСОБ СНИЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛИПИДОВ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКЕ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Медведев А.П., Кошнерова Л.А., Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» ,
г. Витебск, Республика Беларусь.

Разработан простой, технологичный, приемлемый для сывороточного производства способ снижения содержания общих липидов в лечебно – профилактической сыворотке против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота.

An uncomplicated, tecbnology simple, avaliable procedure for serum manufacturing bas been developed whicb enables a reduced number of lipids in the result serum against bovine salmonellosls and pasteurellosls.

Введение. Липиды – органические вещества, которые наряду с углеводами и белками, входят в состав тканей и жидкостей животных и растений. Липиды различаются по своей структуре, составу и свойствам. Они не растворимы в воде, но растворяются в алкоголе, хлороформе, бензоле, эфире и других органических растворителях.

Липиды играют важную роль в организме животных. Они служат энергетическим материалом, участвуют в процессах тканевой проницаемости, являются хорошими растворителями для отдельных витаминов и обеспечивают их накопление в организме.

В тканях и жидкостях животных липиды находятся как в свободном состоянии, так и в виде соединений с белками, углеводами и между собою.

Известно, что в состав лечебно – профилактической сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота кроме специфических антител входят ряд компонентов таких как белки, общие липиды и их фракции. Незначительная часть белков гипериммунной сыворотки связана с антителами, большая же часть их, как и другие компоненты, в том числе и общие липиды не отвечают за активность препарата и являются балластом.

При применении препарата неспецифические белки инициируют в организме синтез антиглобулинов, снижающих профилактический и лечебный эффект, а липиды вызывают при хранении сыворотки связывание с ними специфических белков, ее помутнение, образование осадка, что отрицательно влияет на качество биопрепарата и его товарный вид.

Известен способ осветления сывороток против других инфекций заключающийся в добавлении к ним 5% порошкообразного полиэтиленгликоля и последующим тщательным перемешиванием, отстоем их и фильтрацией. Однако, этот способ обеспечивает только осаждение балластных белков, а не освобождает сыворотки от липидов.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Кроме упомянутого способа гипериммунные сыворотки, получаемые из крови волов-продуцентов, обрабатывают дезмолом, добавляя его к ним в количестве 0,1 – 0,3 %. Способ обеспечивает почти полное удаление балластных белков, но также не освобождает сыворотки от липидов.

В связи с отмеченным, освобождение гипериммунной сыворотки от липидов или значительное снижение их концентрации в препарате – важное условие улучшения качества целевого продукта.

Поэтому целью настоящих исследований явилась разработка приемлемого для сывороточного производства способа удаления липидов из гипериммунной лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота.

Материалы и методы. В экспериментах использованы три опытные серии гипериммунной ассоциированной сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого. Сыворотка опытных серий получена от волов-продуцентов, которых гипериммунизировали инактивированным сальмонеллезно-пастереллезным антигеном.

Содержание липидов в сыворотке вычисляли путем умножения величины оптической плотности сыворотки на количественное содержание липидов в эталонном растворе и последующего деления полученной суммы на величину оптической плотности эталона.

Для удаления липидов из сыворотки использовали порошкообразный химический реагент “Вид-А”. Это моющее средство, содержащее сульфанол, триполифосфат натрия, жидкое стекло, соду кальценированную, сульфат натрия. Препарат применяют для мытья доильных установок, молочного оборудования и тары.

После дефибринации плазмы, удаления фибрина и консервации сыворотки определяли содержание общих липидов. Затем, в емкость с сывороткой при включенной мешалке добавляли 0,1 % “Вид-А” к объему препарата. Для полного растворения порошкообразного реагента в сыворотке, мешалку оставляли работающей в течение 5-7 минут. После растворения вещества сыворотку перекачивали в отстойник, где она отстаивалась в течение 15 суток при температуре 2-15°С. По окончании срока отстоя удаляли верхний слой и осадок, определяли содержание липидов в осветленном препарате, подвергали его фильтрации, расфасовке, проверке на стерильность, безвредность, активность.

Сыворотку на стерильность проверяли путем высева ее на питательные среды (МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, среду Сабуро) с последующим выдерживанием засеянных сред в термостате при 37-38°С в течение 10 суток. Среду Сабуро выдерживали в отдельном термостате, поддерживающим температуру в пределах 20-22°С. При отсутствии видимого роста микроорганизмов в средах сыворотку считали стерильной.

Безвредность сыворотки опытных серий определяли на белых мышах и морских свинках. Мышам массой 16-18 г сыворотку вводили подкожно в области спины в дозе 0,5 см^3 на животное, а свинкам массой 350-360 г – подкожно в области живота в дозе 3 см^3. На каждую опытную серию сыворотки использовали по 5 лабораторных животных каждого вида. За животными вели наблюдение в течение 10 суток.

Если мышки и свинки в течение этого срока оставались здоровыми, препарат признавали безвредным.

Агглютинирующую активность сыворотки определяли в РА, которую ставили классическим способом в пробирках.

Превентивную активность сыворотки определяли на белых мышах массой 18-20 г. Этих животных использовали в опытах ввиду их высокой чувствительности к сальмонеллам и пастереллам. Сыворотки каждой серии вводили мышам подкожно в области спины в дозах: 0,5; 01; 0,02; 0,004 и 0, 0008 см^3, испрользуя на каждую дозу 5 мышек. Спустя 2-3 часа, мышей, получивших сыворотку и не менее 5-и интактных мышек (контроль) заражали 2 ЛД$_{50}$ контрольных штаммов сальмонелл и пастерелл. За мышками вели наблюдение в течение 10 дней, отмечая павших и выживших.

Величину 50%-ной иммунизирующей дозы сыворотки для мышей рассчитывали по формуле Кербера в модификации Ашмарина:

$$ИД_{50} = Lg\ Д - \sigma\ (\sum Li - 0,5),$$ где

Д – максимальная из испытанных доз;

σ - логарифм числа разведения;

Li – отношение числа животных, давших эффект при введении данной дозы к общему числу животных, которым эта доза введена;

∑ Li – сумма значений Li, найденная для всех испытанных доз.

Результаты исследований. Результаты опытной работы позволили установить следующее.

Количество общих липидов после обработки сыворотки реагентом “Вид-А” серии № 1 и ее отстоя составило 0,90 ± 0,02 г/л, т.е. снизилось на 1,43± 0,01 г/л, а после фильтрации, в готовом препарате содержалось 0,33 ± 0,01 г/л общих липидов, в то время как концентрация их в сыворотке серии № 4 (контроль), не обработанной “Вид-А” составила 2,12 г/л.

Сыворотка серии № 2 содержала 0, 85 г/л общих липидов, а серии № 3 - 0,95 г/л. Необходимо отметить, что в препаратах этих серий до обработки “Вид-А” содержание липидов было в пределах 2,13 – 2,26 г/л, т.е. приблизительно в таком же количестве, что и в контрольной серии препарата.

При контроле на стерильность в питательных средах, засеянных сывороткой всех трех опытных серий роста микроорганизмов обнаружено не было, т.е. сыворотка этих серий оказалась стерильной.

Все три опытные серии сыворотки, обработанной “Вид-А” признаны безвредными, т. е. белые мыши и морские свинки, получившие препарат оставались клинически здоровыми в течение 10 дней наблюдения.

Для постановки РА, исследуемую сыворотку опытных и контрольной серий разводили изотоническим раствором хлорида натрия начиная с разведения 1: 25, 1: 50, 1: 100 и т.д. с двойным шагом до разведения 1: 12800. В качестве антигенов использовали смыв агаровых культур сальмонелл и пастерелл. Реакцию ставили в объеме 1 см^3.

Результаты учета титров агглютининов в РА приведены в таблице 1.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Таблица 1 - **Агглютинирующая активность сыворотки опытных и контрольной серий**

№ серий	Титр агглютининов в отношении		
	S. dublin	S. typhimurium	P. multocida
1	1 : 1600	1 : 1600	1 : 1600
2	1 : 1600	1 : 3200	1 : 3200
3	1 : 3200	1 : 3200	1 : 3200
4	1 : 1600	1 : 1600	1 : 1600

Как свидетельствуют данные таблицы титр антител для сыворотки серии № 1 в отношении как сальмонелл, так и пастерелл оказался равным и составил 1 : 1600, титр агглютининов для сыворотки серии № 2 в отношении S. dublin составил 1 : 1600, в отношении S. typhimurium и P. multocida 1 : 3200. Агглютинирующая активность сыворотки серии № 3 в отношении сальмонелл и пастерелл оказалась равнозначной (титр 1 : 3200). Для препарата контрольной серии титр антител состав 1: 1600 в отношении всех антигенов, используемых в РА.

Приведенные данные показывают, что сыворотка против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота под воздействием реагента "Вид-А" не снижает своей агглютинирующей активности.

Результаты испытания сыворотки опытных и контрольной (серия 4) серий на активность представлены в таблице 2.

Таблица 2 - **Превентивная активность сыворотки опытных и контрольной серий для белых мышей.**

№ серий	$ИД_{50}$ сыворотки ($см^3$) для мышей в отношении		
	S. dublin	S. typhimurium	P. multocida
1	0,15	0,16	0,15
2	0,14	0,13	0,14
3	0,15	0,16	0,14
4	0,15	0,16	0,15

Цифровой материал таблицы показывает, что сыворотка, как опытных, так и контрольной серий по величине $ИД_{50}$ для белых мышей является практически равнозначной как в отношении сальмонелл, так и в отношении пастерелл.

Заключение. Проведенная опытная работа позволяет заключить, что обработка гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота реагентом "Вид-А" не оказывают отрицательного влияния на стерильность, безвредность, агглютинирующую и превентивную активность препарата, но позволяет снизить концентрацию общих липидов в сыворотке, осветлить ее и улучшить товарный вид целевого продукта.

Литература. *1. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. – 704 с. 2. Бтохимия животных: учебник / А.В. Чечеткин [и др.]; под ред. проф. А.В. Чечеткина. – М., Высшая школа, 1982.- 511 с. 3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. чл.-корр. РАН, проф. Е.С. Северина и проф. А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. -448 с. 4. Жеребцов, Н.А. Биохимия: учебник / Н.А. Жеребцов, Т.Н. Попова, В.Г. Артюхов. – Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2002. – 696 с. 5. Кононский, А.И. Биохимия животных: учеб. пособие для вузов. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 432с. 6. Николаев, А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. 566 с. 7. Хазипов, Н.З. Биохимия животных: учебник / Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарова. – Казань: КГАВМ, 2003. -312 с. 8. Алиев, А.А. Липидный обмен и продуктивность жвачных животных, - М: Колос, 1980.- 120 с. 9. Алиев, А.А., Мартюшов В.М. Десатурация стеариновой кислоты в процессе всасывания в кишечнике // Тез. докл. научно-произв. конфер. по овцеводству. – Ставрополь. – Тр. ВАСХНИЛ, 1980. – С 112. 10. Архипов, А.В. Обмен липидов у кур и влияние на него факторов питания: Автореф. дис. …докт. биол. наук: 03.00.04/ МВА – М., 1977. – 41 с. 11. Бабина, М.П. Иммунный статус и состояние липидного обмена у цыплят – бройлеров при использовании пробиотиков / ВГАВМ. – Витебск, 1996. – Т.34.- С. 24-27.*

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:579.842.14

ОПТИМИЗАЦИЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ В РЕАКТОРАХ

Медведев А.П., Кошнерова Л.А., Юдасин А.М., Жаков В.М.
УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»
УО «Витебская биофабрика», г.Витебск, Республика Беларусь

В данной работе изложены результаты исследований по оптимизации процесса глубинного культивирования производственных штаммов сальмонелл в реакторах.

In this paper we present the results of studies on optimization of submerged culture production of stralns of salmonella in the reactors.

Введение. В системе мероприятий по профилактике инфекционных болезней сельскохозяйственных животных, в том числе и сальмонеллеза, первостепенное значение имеет массовая вакцинация.

Для проведение активной специфической профилактики сальмонеллеза требуется значительный объем вакцин, промышленное производство которых не осуществимо без глубинного культивирования вакцинных штаммов сальмонелл.

Глубинный метод выращивания патогенных микроорганизмов в промышленных условиях впервые был апробирован Н.Е. Лебедевым в 1950 году. Внедрение его в промышленное производство явилось большим

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ