Профильтрованную через асбестовые фильтры сыворотку мы высевали на питательные среды (МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом, среду Сабуро). Упомянутые среды, за исключением среды Сабуро, инкубировали в термостате при температуре 37- 38°С в течение 10 суток. Среду Сабуро выдерживали при 18 - 20°С также 10 суток. При визуальном просмотре сред видимого роста микроорганизмов не обнаружено, т.е. сыворотку признавали стерильной.

Фильтрование сыворотки через мембранные фильтры осуществляли с помощью системы, состоящей из емкости высокого давления, фильтродержателя и мембранных SM-фильтров фирмы «Миллипор». При работе с фильтродержателем диаметром 293 мм с мембранным фильтром типа SM нам удалось за 2 часа простерилизовать 60 литров сыворотки. Профильтрованную через мембранные фильтры сыворотку на стерильность и безвредность не исследовали в связи с тем, что фирма «Миллипор» гарантирует стерильность и биологическую инертность любых фильтруемых жидкостей с применением изготовляемых ее фильтров.

Заключение. Сепарация позволяет осветлить поливалентную антитоксическую сыворотку против сальмонеллеза телят, поросят и птиц за счет значительного снижения содержания в ней балластных белков и липидных фракций. Применение асбестовых пластин для стерилизующей фильтрации снижает агглютинирующую активность сыворотки ввиду их высокой абсорбционной способности. Из асбестовых фильтров не вымываются в сыворотку вещества, оказывающие на мышей и морских свинок токсическое действие, что подтверждается проверкой безвредности препарата для этих лабораторных животных.

Мембранные фильтры обладают высокой пропускной способностью, являются биологически инертными, исключают потери сыворотки в процессе фильтрации и гарантировано обеспечивают ее стерильность.

Литература. *1.Медведев А.П. Противобактериальные лечебно-профилактические сыворотки: монография/ Медведев А.П.-Витебск:УО ВГАВМ, 2007.-379 с. 2.Масленко Р.И. Основы иммунологии/ Р.И. Масленко . Львов: Урожай, 1999.-472с. 3.Медведев А.П. Контаминация биопрепаратов посторонней микрофлорой/ А.П. Медведев, В.М. Жаков// Ученые записки/ УО ВГАВМ.-Витебск, 2003.-т.39, ч.1 – с.166-167. 4.Медведев А.П. Осветление сыворотки против сальмонеллеза животных/А.П. Медведев// Ветеринарная наука – производству: Межведомственный сборник.-Минск, 1993.- Вып.31.-с.119-122. 5.Основные методологические приемы и принципы получения лечебно-профилактических и диагностических сывороток/ А.П. Медведев, А.А.Вербицкий// Ветеринарная медицина Беларуси. -2001. -№2.-с.7-8.*

УДК 619:615.373

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ИЗ НЕПИЩЕВОГО СЫРЬЯ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПАСТЕРЕЛЛ

Медведев А.П., **Кошнерова Л.А.**, **Гласкович А.А.**, **Огурцова К.А.**
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь

Приготовлена питательная среда из непищевого сырья и доказана ее пригодность для культивирования пастерелл.

The nutrient medium is prepared from not food raw materials and its suitability is proved for cultivation pasterellos.

Введение. Пастереллез - контагиозная инфекционная болезнь домашних и диких животных, характеризующаяся при остром течении признаками септицемии, крупозным воспалением легких, плевритом, а при хроническом течении гнойно-некротической пневмонией, артритом, маститом, керато-конъюктивитом, эндометритом и иногда энтеритом (А.Н. Панин, Р.В. Душук, 2001).

Вызываемая пастереллами патология сопровождается значительным экономическим ущербом вследствие гибели животных, вынужденного убоя, снижения продуктивности, затрат на проведение лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий.

В системе мер по профилактике и ликвидации пастереллеза большое значение отводят применению специфических средств защиты. Действительно, биопромышленность России производит для нужд животноводства 15 вакцин против пастереллеза и 3 гипериммунные лечебно-профилактические сыворотки. В Республике Беларусь единственное биопредприятие УП «Витебская биофабрика» выпускает вакцину полужидкую гидроокисьалюминиевую против пастереллеза крупного рогатого скота, вакцину ассоциированную поливитаминную против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней и сыворотку против пастереллеза крупного рогатого скота, овец и свиней.

Для производства биопрепаратов требуется большое количество питательных сред, особенно жидких. Питательные среды нужны для изучения биологических свойств микроорганизмов, выделения чистой культуры бактерий и ее идентификации, постановки лабораторного диагноза, хранения и поддержания ценных производственных и музейных штаммов, санитарно-бактериологической оценки воды, продуктов питания для людей, кормов для животных и других целей.

В литературе имеются сведения по получению из различного непищевого сырья (желатин, казеин, фибрин, утилизированное мясо, органы животных и птиц, куриные эмбрионы, дрожжи, кормовая рыбная мука и др.) гидролизатов и приготовлению на их основе качественных питательных сред для культивирования микроорганизмов. Об этом свидетельствуют исследовательские работы многих авторов (Л.Я. Телишевская, В.Е. Караваева, Е.Г. Аверьянова, 1987; СИ. Цыганкова, В.И. Космына, Г.Г. Горбенко, 1987; А.С. Фоменко, 1991; М.В. Хромов, 1991; А.П. Медведев, 1994; Л.Я. Телишевская, 2000, 2002 и др.).

Для изготовления основ питательных сред используют качественное говяжье мясо, пригодное в пищу людям, что нецелесообразно и экономически не выгодно.

Поэтому мы испытали возможность получения белковых гидролизатов и приготовления на их основе питательных сред из непищевого сырья, т.е. из мяса волов-продуцентов гипериммунных сывороток,

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

выбракованных по разным причинам (истечение срока годности, перелом конечностей, — анафилактический шок и т.д.).

Материал и методы исследований. Мясо вынужденно убитых животных измельчали на мясорубке, помещали в емкость с механической мешалкой, добавляли 1,5 литра водопроводной воды на 1 кг фарша, подщелачивали 10 %-ным раствором едкого натра до pH 7,8 - 8,0. На 1 литр смеси добавляли 150-200 г. очищенной от оболочек и измельченной на мясорубке поджелудочной железы крупного рогатого скота или 20-30 г. панкреатина и 80 $см^3$ хлороформа.

Гидролиз проводили в течение 5-6 суток при температуре 42-43 °С. Первые 6 часов смесь перемешивали через каждый час, а затем 3-4 раза в сутки. Ежедневно определяли pH и в случае снижения показателя смесь подщелачивали до 7,8 - 8,0 10 %-ным раствором едкого натра. О готовности перевара судили по падению процентного содержания триптофана.

Биохимический состав гидролизатов оценивали по содержанию общего аминного азота и триптофана, pH определяли потенциометрически.

В качестве контроля использовали гидролизаты, приготовленные из говяжьего мяса II категории.

Результаты опытов показали, что по биохимическим тестам опытные гидролизаты близки к контрольным и содержали: общего азота - 800 - 1200 мг %, аминного азота - 700 - 900 мг %, триптофана - 150 - 200 мг %.

Из опытных гидролизатов приготовили бульон Хоттингера. Для этого прозрачную жидкость гидролизатов (перевар Хоттингера) разводили дистиллированной водой до содержания в бульоне 280-300 мг % аминного азота, добавляли 0,2 - 0,5 % пептона, 0,5 % поваренной соли, 0,3 % химически чистого двуосновного фосфорнокислого натрия и 10 % воды на выкипание. В процессе кипячения устанавливали pH 7,8 - 8,0, кипятили среду час и оставляли для остывания на 1-2 часов, затем фильтровали через ватно-марлевый фильтр, расфасовывали в колбы, пробирки и стерилизовали при 120 °С в течение 45-50 минут.

Приготовленную питательную среду использовали для культивирования бактерий P. multocida №№ 796 и 5284. В параллельных опытах выращивали эти же штаммы пастерелл в питательной среде, приготовленной на основе гидролизата из качественного говяжьего мяса (контроль). Культивирование пастерелл проводили глубинным методом во флаконах с бульоном Хоттингера без добавления стимулятора роста бактерий и с добавлением его к бульону (5 % амидопептида-2). Выращивание пастерелл вели при температуре 37-38°С в течение 24 часов. В процессе культивирования определяли концентрацию растущей культуры, жизнеспособность пастерелл, тинкториальные, морфологические, культуральные, биохимические свойства и вирулентность микробных культур.

Определение концентрации бактерий осуществляли фотометрическим методом. Количество жизнеспособных клеток устанавливали путем титрования на кровяном агаре в чашках Петри. Культуральные свойства определяли по характеру роста пастерелл в жидких, полужидких и на плотных питательных средах. Чистоту культур и их тинкториальные свойства изучали микроскопией препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Способность ферментировать сахара определяли в средах Гисса. Образование индола и сероводорода выявляли в помощью индикаторных бумажек. Подвижность бактерий определяли посевом их уколом в полужидкий агар. Вирулентность микробных культур определяли по г. величине ЛД50 для белых мышей.

Результаты исследований. Проделанная опытная работа позволила установить следующее. У культур пастерелл стационарная фаза роста длилась 6-7 часов. Спустя 10 часов с момента посева бактерий их накопление в контрольной среде составило 3,1 млрд. м.т./$см^3$, в среде из непищевого сырья - 2,9 млрд. м.т./$см^3$, а в такой же среде, но с добавлением аминопептида-2 - 3,6 млрд. м.т./$см^3$.

Контроль жизнеспособности микробных клеток показал, что концентрация их достигала максимального значения к 14 часам культивирования и составила в контрольной среде 3,5 млрд. м.к./$см^3$, в бульоне из непищевого сырья – 3,4 млрд. м.к./$см^3$.

Рост бактерий в бульоне из непищевого сырья характеризуется равномерным помутнением питательной среды. На МПА образовывались едва заметные невооруженным глазом, мелкие, прозрачные с ровными краями колонии с голубоватым оттенком, которые напоминали капельки росы.

В препаратах-мазках приготовленных из выращенных культур и окрашенных по Грамму, в поле зрения микроскопа пастереллы представляли собой овоидные темно-малинового цвета, которые располагались одиночно, попарно, короткими цепочками и скоплениями неопределенной формы.

При посеве бактерий уколом в полужидкий агар наблюдали рост пастерелл в виде серо-белого стержня по уколу, что свидетельствует о их неподвижности.

Биохимические свойства пастерелл характеризовались их способностью ферментировать глюкозу, сахарозу, манит, а расщепления лактозы, раффинозы, арабинозы, мальтозы, ксилозы, дульцита не наблюдалось. Пастереллы образовывали индол, не выделяли сероводород.

Изучение вирулентных свойств пастерелл позволило установить, что ниаболее вирулентными оказались бактерии культур, выращенных в течение 8-ми часов, как контрольной так и опытной сред. Вирулентность (ЛД50 для белых мышей) составила для культуры контрольной среды 10 м.к., для среды из непищевого сырья без стимулятора роста – 8 м.к., с добавлением стимулятора – 12 м.к. По мере удлинения срока культивирования вирулентность культур снижения. Например, ЛД50 бактерий контрольной среды для белых мышей через 10 часов выращивания составила 25 м.к., через 18 часов – 34 м.к., через 24 часа – 69 м.к. Аналогичная закономерность снижения вирулентности пастерелл установлена для культур, выращенных в опытных средах из непищевого сырья.

Заключение. Таким образом, в результате экспериментальной работы нам удалось путем гидролиза непищевого сырья животного происхождения получить гидролизаты, которые по биохимическому не отличались от гидролизатов, полученных из пищевого продукта – говяжьего мяса II категории.

Из опытных гидролизатов был приготовлен бульон Хоттингера и использован для культивирования производственных штаммов пастерелл.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Накопление бактериальной массы в контрольной среде и бульоне из непищевого сырья без стимулятора роста, практически было одинаковым (3,1 и 2,9 млрд. м.к./см^3, соответственно), а в среде с добавлением амидопептида-2 составило 3,6 млрд. м.к./см3.

Выращенные пастереллы по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и вирулентным свойствам были характерными для рода Pasteurella и вида P. multocida.

Следовательно, считаем возможным приготовление питательных сред из непищевого сырья и использование их для культивирования пастерелл.

Литература. 1. *Цыганкова СИ., Космына В.И., Горбенко Г.Г. Усовершенствование технологии изготовления гидролизатов на основе отходов мясной промышленности. Научные основы технологии промышленного производства ветеринарных биологических препаратов. Тезисы докладов., М., 1987, с. 113-114. 2. Караваев Б.Е., Телишевская Л.Я., Аверьянова Е.Г. Содержание аминокислот и пептидов в гидролизатах белок-содержащего сырья. Труды ВГНКИ. Применение химиотерапевтических препаратов в ветеринарии и разработка методов их контроля. М, 1989, с. 59-64. 3. Медведев А.П. Применение двухкомпонентной питательной среды для выращивания сальмонелл. Ученые записки УО ВГАВМ. - Витебск, 1994.-Т.31.-с. 120-122. 4. Вербицкий А.А., Медведев А.П. Питательные среды и культивирование микроорганизмов. - Витебск: УО ВГАВМ, 2008. -236 с.*

УДК 619:636.09,:616,98

ЭКОЛОГО-ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ СЕРОПЕЙЗАЖА И БИОЦЕНОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕНОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ САЛЬМОНЕЛ В ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЮГО-ЗАПАДА УКРАИНЫ

Наконечный И.В.
Николаевский национальный университет им. В. А. Сухомлинского
Наконечный А.И.
Днепропетровский государственный медицинский университет

Изучение кругов циркуляции сальмонелл, как отдельных паразитарных образований «возбудитель-носитель», в условиях различных биоценотических комплексов, свидетельствуют о наличии нескольких, экологически и этиологически обособленных резервуаров. В условиях сохранения закрытых природных и мелких фермских резервуаров инфекта (связанных с 7-12 сероварами сальмонелл), абсолютное лидерство стойко удерживает антропогенный резервуар (более 100 сероваров).

The Study circle to circulations of the salmonellas, as separate parasiticus of the formation "incitant-carrier", in condition different biocenos complex, are indicative of presence several, ecological and etiologic isolated reservoir. In condition of the conservation closed natural and small ferms reservoir infect (in accordance with 7-12 serovars of the salmonellas), absolute lesdership firmly holds the антропогенный reservoir (more than 100 serovars).

Введение. Во второй половине XX-го века сальмонеллезы человека и животных являются наиболее распространенными зоонозами, проявляя стойкую тенденцию к дальнейшей активации. Наибольший социально-экономический урон от сальмонеллезов несут наиболее экономически развитые страны, так в ЕС показатели эпидинтенсивности демонстрируют упорную стабильность, колеблясь на уровне от 48 до 86 случаев/100 тыс. населения. Кроме эпидемической значимости, сальмонеллезы являются не мене проблемными в санитарном плане, вызывая огромные экономические проблемы, связанные с недополучением прибыли производителями пищевой продукции за счет ухудшения ее санитарного качества [3]. Актуальным является и эпизоотическое проявление сальмонеллезов, особенно в птицеводстве [6,7].

Юго-западный регион Украины традиционно является территорией с высоким уровнем эпидемической опасности сальмонеллезов, средние по региону показатели (за 1986-2006 гг.) эпидинтенсивности составляют 28-32 случая на 100 тыс. населения, а в городах – до 48/100 тыс. населения. Особую обеспокоенность вызывают вспышечные проявления сальмонеллезных диарей у детей и тяжелых токсикоинфекций среди взрослого населения [2]. В отличие от эпидситуации, эпизоотическое проявление сальмонеллезов в животноводстве региона при резком спаде поголовья (с начала 90-х гг.) элиминировано. Реально, в период 1999-2010 гг., практически все зоогенные изоляты сальмонелл были выделены от молодняка птицы (*S. pullorum-gallinarum, S. enteritidis, S. typhimurium*) и с продукции птицеводства (преимущественно импортного происхождения).

В этой связи большую актуальность приобретает вопрос о взаимозависимости сероварианной структуры сальмонелл, изолированных от экологически разных источников - человека, домашних животных, внешней среды, а также вопрос взаимосвязи отдельных сероваров с конкретным видом хозяина (носителя) в локальных биоценотических сообществах природного и антропогенного характера. Почти не исследованными остались вопросы распространения и особенностей серопейзаже сальмонелл у природной среде [4]. Решение указанных вопросов было определено в качестве **задач** исследований, **целью** которых служило раскрытие эколого-эпизоотических закономерностей циркуляции сальмонелл разных сероваров в условиях антропогенных и природных биоценотических образований на территории региона в период последних 30-ти лет.

Материал и методы исследований. Собственные исследования по указанной проблематике, выполнены в период 1985-2010 гг., предусматривали изучение всех составных частей проблемы сальмонеллеза – экологической, ветеринарной, санитарной и медицинской. Это позволило накопить значительный объем фактического материала и с достаточным уровнем достоверности провести аналитические обобщения этиологической структуры сальмонеллезов животных и человека, а также их взаимосвязи с биоценотическими и ландшафтными особенностями источников инфекта. Значительное внимание при этом придавали исследованию природных источников и экологической детализации кругов циркуляции сальмонелл отдельных сероваров.

Базовым материалом для данной работы послужили результаты собственных многолетних лабораторных и полевых исследований, экспертизы проб с разнообразных объектов внешней среды (более 3,7

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ