

УДК 619:579.842.14

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИГОДНОСТИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА***Медведев А.П., *Вербицкий А.А., *Даровских С.В., **Кулешов Д.Б.**

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

**ОАО «БелВитунифарм», п. Должа, Республика Беларусь

В статье приведены сведения по определению пригодности производственных штаммов сальмонелл для конструирования специфического антигена, который можно было бы использовать в качестве основного компонента противосальмонеллезных вакцин, а также применять для гипериммунизации волов-производителей лечебно-профилактических сывороток. **Ключевые слова:** сальмонеллы, штаммы, антиген, вакцины, сыворотки, колонии, среды, патогенность, диссоциация, биологические свойства.

THE DETERMINATION OF PRODUCTION STRAINS OF SALMONELLA FOR CONSTRUCTION OF SPECIFIC ANTIGEN***Verbitsky A.A., *Medvedev A.P., *Darovskikh S.V., **Kuleshov D.B.**

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

**OJCM «BelVitunipharm», Dolzha, Republic of Belarus

The article contains information about determination of suitability of production strains of salmonella for construction of specific antigen, which could also be used as the main component of vaccines against salmonellosis and can be used for hyperimmunization of producer oxen of therapeutic and prophylactic serum. **Keywords:** salmonella, strains, antigen, vaccines, serum, colonies, medium, pathogenicity, dissociation, biological properties.

Введение. Сальмонеллы являются многочисленной группой микроорганизмов. Они широко распространены в природе. Их обнаруживают в почве, воде, воздухе и, естественно, в организме животных и человека. Сальмонелл подразделяют на патогенных, условно-патогенных и сапрофитов. Патогенные микроорганизмы способны вызывать различные инфекционные процессы в организме животных и определенную нозологически конкретную болезнь под названием сальмонеллез. Эта болезнь возникает чаще всего в результате попадания патогенных сальмонелл в желудочно-кишечный тракт животных вместе с кормом и водой.

Сальмонеллез характеризуется воспалением слизистой оболочки кишечника, что клинически проявляется поносом. При этом наблюдается обезвоживание организма больных, истощение, токсикоз, повышение температуры тела, учащение пульса, дыхания, развивается сепсис, и наступает гибель животных. В случае подострого и хронического течения болезни регистрируют воспаление легких и суставов. Взрослые животные (самцы) болеют реже, а у самок болезнь может проявляться абортными. Сальмонеллезом в основном болеют молодняк сельскохозяйственных животных, телята, поросята, ягнята, жеребята, цыплята, утята и др.

Сальмонеллез широко распространен во всех странах мира, в том числе, и в сельхозпредприятиях нашей страны. По данным многих исследователей, сальмонеллез относится к инфекционным болезням, вызываемым условно-патогенной микрофлорой, занимая по широте распространения второе место после эшерихиоза. По мнению специалистов животноводческих хозяйств, ученых, экспертов ВОЗ, применение специфических биопрепаратов является самой действенной мерой в борьбе с сальмонеллезом животных.

Для вакцинации животных против сальмонеллеза отечественное биопредприятие ОАО «БелВитунифарм» производит четыре вида вакцин и три вида гипериммунных сывороток. Эффективность этих препаратов зависит от соответствия биологических свойств производственных штаммов сальмонелл паспортным требованиям, предъявляемым к ним.

Производственный регламент по изготовлению противосальмонеллезных препаратов предусматривает использование для их получения следующих серовариантов сальмонелл: *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis*. В этом регламенте предусмотрена проверка биологических свойств, штаммов, т.е. определение их морфологии, культуральных, биохимических, антигенных, иммуногенных свойств, что позволяет объективно оценивать качество штаммов, судить о принадлежности бактерий к определенному роду и виду.

Определение пригодности производственных штаммов сальмонелл для конструирования специфического антигена – практическое требование, позволяющее при положительном решении вопроса о качестве штаммов бактерий готовить иммуногенный антиген, вводить его в состав противосальмонеллезных вакцин, а также использовать для гипериммунизации волов-производителей лечебно-профилактических сывороток.

В этой связи целью данной работы явилась оценка пригодности производственных штаммов сальмонелл для конструирования специфического антигена на основе результатов определения биологических свойств бактерий.

Материалы и методы исследований. В опытной работе использовали производственные штаммы сальмонелл: *S. choleraesuis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373, *S. abortusovis* 372. Бактерии выращивали в МПБ, ПЖА и на МПА. Культивирование микроорганизмов вели в течение 20-24 часов при 37°C.

Тинкториально-морфологические свойства сальмонелл определяли путем световой микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Культуральные свойства изучали по характеру роста бактерий в жидких, полужидких и на плотных питательных средах. Подвижность сальмонелл определяли путем посева их уколом в полужидкий агар.

Биохимические свойства сальмонелл определяли по их способности ферментировать сахара, выделять индол и сероводород. При этом использовали среды Гисса, дифференциально-диагностические среды Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфитный агар.

Диссоциацию сальмонелл определяли просмотром колоний в отраженном проходящем свете и пробой кипячения. Пробу кипячения ставили с агаровой культурой, состоящей из колоний в S-форме. Культуру смывали стерильным физраствором, устанавливали концентрацию 1 млрд м.т./см³ и прогревали в водяной бане при 100°C в течение часа, а затем выдерживали при комнатной температуре в течение суток. Если смывы после прогревания оставались в виде гомогенной взвеси, считали, что культуры на поверхности плотной питательной среды формировали колонии в истинной «S» форме.

Интенсивность диссоциации определяли путем десятикратного пассажа культур сальмонелл через питательные среды и подсчета колоний на поверхности плотной питательной среды в чашках Петри. Антигенную структуру бактерий определяли в РА с монорецепторными сальмонеллезными агглютинирующими О- и Н-сыворотками.

Патогенность сальмонелл устанавливали для белых мышей массой 18-20 г. Мышей заражали подкожно смывом суточной агаровой культуры. Для этого довели концентрацию смыва с помощью стандарта мутности до 1 млрд м.т./см³ и затем инъецировали его мышам в дозе 0,1 см³ п/к.

Результаты исследований. В результате опытной работы установлено следующее. В поле зрения микроскопа в препаратах-мазках все сероварианты сальмонелл морфологически были аналогичны друг другу. Они представляли собой грамтрицательные палочки с закругленными концами шириной 0,5-1 мкм, длиной 0,5-4 мкм. Бактерии располагались одиночно, беспорядочно, небольшими скоплениями. По морфологии незначительно отличались бактерии штамма *S. abortusovis*, которые были более тонкими и стройными.

В МПБ при росте и размножении сальмонеллы вызывали помутнение среды и образование осадка серо-белого цвета. Менее значительное помутнение среды и образование легкого осадка наблюдали при культивировании бактерий *S. abortusovis*.

В полужидком агаре сальмонеллы интенсивно росли по ходу укола в виде серо-белого стержня, а также давали рост по всему объему среды, что свидетельствовало об их подвижности.

На поверхности МПА сальмонеллы формировали колонии величиной от 2 до 4 мм в диаметре. Бактерии *S. abortusovis* образовывали колонии величиной не более 2 мм. Колонии в S-форме имели круглую форму, ровные края были выпуклыми, блестящими, влажными, сочными, серо-белого цвета, а при рассмотрении в проходящем свете наблюдали голубоватый оттенок. Колонии в R-форме отличались волнообразными, кружевными, изрезанными краями, имели уплотненный центр, были плоскими, больших размеров, тусклыми и менее влажными. Слизистого вала вокруг колоний замечено не было.

В процессе десятикратного пассирования производственных штаммов сальмонелл через питательные среды в первых двух пассажах наблюдали диссоциацию микробов, но при последующих пассажах степень диссоциации уменьшалась, т.е. отмечалась постепенная адаптация микробов к питательным средам. Количество R-форм бактерий в первом и втором пассажах на поверхности плотной питательной среды в среднем составило 20% от общего числа колоний. Однако уже в 3 и 4 пассажах их количество снизилось до 10%, а в пятом - до 5%. Необходимо заметить, что явление диссоциации расценивается микробиологами как один из универсальных механизмов, свойственных популяции микроорганизмов в целом, который обеспечивает поддержание соответствия их меняющимся условиям внешней среды. Считают, что явление диссоциации обычно происходит от S- к R-форме, но в наших опытах, в связи с адаптацией бактерий, диссоциация происходила в обратном направлении.

Диссоциацию сальмонелл определяли не только визуально, но и пробой кипячения. Исследованные производственные штаммы сальмонелл в пробе кипячения самоагглютинации не давали.

На агаре Эндо сальмонеллы формировали нежные розовые колонии, на среде Левина - прозрачные с голубоватым оттенком, на среде Плоскирева - мелкие бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре колонии имели черный цвет с металлическим блеском, за исключением колоний, образованных *S. choleraesuis*, которые были светло-нежными, зеленоватыми.

Биохимическая активность сальмонелл характеризовалась способностью их ферментировать глюкозу, маннит, сорбит, арабинозу, дульцит. Однако они не расщепляли лактозу, сахарозу, салицин, адонит, не выделяли индол, но образовывали сероводород.

Антигенная структура производственных штаммов сальмонелл характеризовалась следующими данными. Бактерии *S. choleraesuis* давали положительную реакцию агглютинации с сыворотками: О-6,7; Н-с, 1,5; *S. dublin* - О-1,9, 12; Н-д, р; *S. typhimurium* - О-1,4; Н-и,1,2; *S. abortusovis* - О - 1,4; Н - b,

е, п, х. Производственные штаммы сальмонелл оказались патогенными для белых мышей. Так, подкожное заражение мышей бактериями *S. choleraesuis*, *S. dublin* и *S. typhimurium* вызывало развитие инфекционных процессов и гибель животных в течение 4-5 суток, а при поражении *S. abortusovis* гибель мышей наступала через 7 суток.

Результаты изучения биологических свойств производственных штаммов сальмонелл сведены в таблицу 1.

Таблица 1 – Биологические свойства производственных штаммов сальмонелл

Свойства	Показатель	Характеристика
Морфологические	Окраска по Граму	Грамотрицательные палочки с закругленными концами размером от 0,5 до 4 мкм, расположенные одиночно, беспорядочно, небольшими скоплениями
Культуральные	Рост на МПА	Круглые колонии от 2 до 4 мм в диаметре с выпуклой поверхностью серо-белого цвета с голубоватым оттенком
	Рост в МПБ	Диффузное помутнение среды, образование на дне пробирки обильного осадка серо-белого цвета
	Рост в ПЖА	Интенсивный рост по уколу и менее интенсивный по всему объему среды
	Рост на Эндо	Нежные колонии с розовым оттенком
	Рост на среде Левина	Прозрачные колонии и голубоватым оттенком
	Рост на среде Плоскирева	Мелкие бесцветные колонии
Биохимические	Рост на висмут-сульфитном агаре	Колонии черного цвета с металлическим блеском
	Ферментативная активность	Бактерии <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. dublin</i> , <i>S. typhimurium</i> и <i>S. abortusovis</i> расщепляли глюкозу, маннит, сорбит, арабинозу, дульцит, ксилозу и не ферментировали лактозу, сахарозу, салицин, адонит
	Образование H ₂ S	Все штаммы сальмонелл образовывали сероводород
	Образование индола	Все штаммы не продуцировали индол
Патогенные	Заражение белых мышей подкожно смывом с агара в дозе 0,1 см ³	Мыши, зараженные культурой <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. dublin</i> и <i>S. Typhimurium</i> , пали через 4-5 суток, а зараженные <i>S. abortusovis</i> - через 7 суток после введения культуры
Антигенные	РА с агглютинирующими сальмонеллезными О- и –Н-сыворотками	<i>S. choleraesuis</i> – 0 – 6,7; Н-с, 1,5. <i>S. dublin</i> – 0 – 1,9, 12; Н-g, p. <i>S. typhimurium</i> -0-1,4; Н-1,1,2. <i>S. abortusovis</i> – 0 – 1,4; Н-b, e, n, x.
Проба кипячения	Кипячение 1 млрд м.т/см ³ взвеси в течение часа	Самоагглютинация бактерий не обнаружена

Заключение. Результаты опытной работы позволяют заключить, что производственные штаммы сальмонелл (*S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis*) по морфологическим, культуральным, патогенным и антигенным свойствам являются типичными для рода *Salmonella* и соответствуют паспортным данным на эти штаммы.

Следовательно, производственные штаммы сальмонелл пригодны для конструирования специфического антигена, который может быть приготовлен с их применением и введен в качестве сальмонеллезного компонента в состав вакцин против сальмонеллеза, а также использован для гипериммунизации волов-продуцентов гипериммунных сывороток.

Литература. 1. Вербицкий, А. А. Питательные среды и культивирование микроорганизмов / А. А. Вербицкий, А. П. Медведев / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. - Витебск : ВГАВМ, 2008. - 236 с. 2. 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. 3. Система культивирования микроорганизмов / В. И. Заерко [и др.] // Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее. - Щелково, 2004. - С. 110-113. 4. Солонко, А. А. Практикум по частной микробиологии / А. А. Солонко, А. А. Гласкович, В. Н. Алешкевич. - Минск : Урожай, 2000. - 250 с. 5. Телишевская, Л. Я. Разработка методов изготовления гидролизатов для питательных сред / Л. Я. Телишевская, С. П. Сергеева // Аграрная

наука. - 2000. - № 10. - С. 22-23. 6. Ткаченко, Н. Н. Разработка и оценка качества новых питательных сред и стимуляторов роста микроорганизмов на основе активированных гидролизатов из молок рыб и вермикулитур: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / Н. Н. Ткаченко ; Ставропольский государственный университет. - Ставрополь, 2009. - 16 с. 7. Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. В. Максимович [и др.] ; под ред. В. В. Максимовича. – Минск : ИВЦ Минфина, 2012. – 776 с.

Статья передана в печать 13.08.2018 г.

УДК 636.614.9 (035.5)

РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОПЫТЕЦ У КОРОВ

Медведский В.А.

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

Установлено, что в исследуемых хозяйствах в обрезке копытцев нуждаются до 40,4% коров, деформация копытного рога обнаруживается у 10,1-12,0% коров, межпальцевые дерматиты – у 8,9-9,0%, воспаление венчика – у 1,6-2,5% коров. Разработана кормовая добавка, позволяющая снизить заболеваемость копытцев у крупного рогатого скота. **Ключевые слова:** кормовые добавки, коровы, копытца, заболевания, профилактика, корм, кровь.

DEVELOPMENT AND USE OF FEED ADDITIVE FOR PREVENTION OF DISEASES OF HOOVES AT COWS

Medvedsky V.A.

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

It has been found that about 40.4% of cows on farms under investigation are in need of hoof trimming. Deformation of hoof horn is found in 10.1-12.0% of cows, interdigital dermatitis are found in 8.9-9.0%, a crown inflammation – in 1.6-2.5% of cows. A feed additive has been developed allowing to reduce the rate of hoof diseases in cattle. **Keywords:** feed additives, cows, hooves, diseases, prophylaxis, feed, blood.

Введение. На современных животноводческих фермах и комплексах в результате внедрения новой промышленной технологии производства продукции значительно усложнилось взаимодействие организма животных с внешней окружающей средой. Изменение условий обитания оказало влияние на повышение заболеваемости животных. Ранее животные наибольшее количество времени находились на пастбищах в естественных условиях, теперь содержание животных осуществляется в закрытых помещениях почти круглый год [2, 3].

Особенности технологии содержания животных на фермах и комплексах обусловили возникновение специфических негативных условий, что привело к массовому заболеванию конечностей животных. На многих животноводческих фермах поражение копытцев животных достигает 30%, а в отдельных случаях - и 70-80% от всего поголовья скота [1].

Об актуальности этого вопроса свидетельствует тот факт, что болезни копытцев у животных занимают по распространенности и наносимому ущербу третье место после маститов и гинекологических заболеваний [4].

Одной из серьезных причин широкого распространения болезней конечностей у крупного рогатого скота является значительное отставание в разработке научно обоснованных технологий по уходу за копытцами.

Рог копытца подвергается вредным воздействиям окружающей среды как во время его формирования, так и после.

Основными причинами заболеваний конечностей у коров является невыполнение зооигиенических и ветеринарных требований относительно содержания животных, отсутствие планового и систематического ухода за копытцами [5].

Очень большое значение в возникновении заболеваний копытцев занимают некачественные и несовершенной конструкции полы. Полы должны быть ровными, на них не должна скапливаться навозная жижа. Щели, острые края, о которые животные могут повредить ноги или получить травму, должны быть тщательно заделаны и отремонтированы. Не допускается шаткость элементов пола. Места прогона и прогулок животных следует очищать от посторонних предметов, сора и хлама [7].

При широких щелях в полах (5-6 см) чрезмерно отросший рог заламывается, на нем появляются трещины, ниши, где скапливаются грязь и навоз, форма копыта изменяется и нарушается его нормальная работа, что очень часто приводит к заболеваниям пальца и других составных элементов конечностей.

На бетонных полах с неровной поверхностью на отдельных участках копытцев создается давление 4-5 кг/см², это приводит к различным осложнениям. На таких полах стирается подошвенная по-