

воротке крови, повышает ферментативную активность в слизистой оболочке кишечника и поджелудочной железы, увеличивает многоплодие и живую массу поросят, повышает ферментативную активность содержимого и слизистой оболочки желудка, кишечника и поджелудочной железы. что вероятно обусловлено биологической активностью йода. В организме он в основном поглощается щитовидной железой и используется для синтеза гормонов.

Литература. 1. Абрамов С.С., Могиленко А.Ф., Ятусевич А.И. Методические указания по определению естественной резистентности и путей ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных. - Витебск, 1989. - 35 с. 2. Велданова М.В. Дефицит йода и эндемический зоб- взаимно связь, следствие и сложные причины // Медицинский научный и учебно- методически журнал. -2001. -С. 172-186. 3. Медведский В.А., Гусаков В.К., Никитин Ю.И., Мотушко Н.С. Методические указания по определению форменных элементов и гемоглобина в крови с помощью инструментальных методов. - Витебск, 1995. - 14 с. 4. Кокорев В.А., Громова Е.В., Сушков В.С., Лобанов К.Н. Влияние йода на продуктивность свиней при откорме // Зоотехния. - 2001. - №5. - С. 19-22. 5. Коена С., Уорд П.А., Мак-Класки Р.Т. Механизмы иммунологии. - М: Медицина, 1983. - 400 с.

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ *SALMONELLA ENTERITIDIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ТЕЛЯТ

Даровских С.В., УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Сальмонеллез – инфекционная болезнь сельскохозяйственных животных, птиц и человека, характеризующаяся при остром течении лихорадкой и расстройством функции кишечника, а при хроническом – пневмониями и артритами. Возбудители сальмонеллеза животных относятся к семейству энтеробактерий (*Enterobacteriaceae*), роду сальмонелл (*Salmonella*), подразделяющемуся на два вида, энтерика (*enterica*) и бонгорги (*bongori*). На сегодняшний день насчитывается более 2500 сероваров сальмонелл, которые разделены по антигенному родству на 52 серологические группы.

Источником возбудителя инфекции являются больные, переболевшие и животные-сальмонеллоносители, включая грызунов и диких птиц. Факторами передачи сальмонелл служат контаминированные корма, вода, подстилка, предметы ухода за животными, одежда, обувь и оборудование. Возникновению и распространению заболевания способствуют неблагоприятные условия содержания животных, неудовлетворительное и некачественное кормление, а также различные стрессовые факторы. Сальмонеллез может регистрироваться в любое время года.

Болезнь является токсикоинфекцией, опасной для здоровья и жизни человека. Проблему сальмонеллеза ставят в ряд важнейших ветеринарных и медико-экологических проблем. Это связано с увеличением числа серологических вариантов возбудителей, обнаруженных у сельскохозяйственных животных, птиц и людей, контаминацией сальмонеллами пищевых продуктов животного происхождения и различных объектов внешней среды. Расширился спектр серотипов бактерий циркулирующих среди поголовья различных видов животных и птиц.

Сальмонеллез наносит значительный экономический ущерб животноводству Республики Беларусь, который складывается из высокой летальности заболевших, затрат на лечение животных, проведения ветеринарно-санитарных мероприятий по ликвидации и профилактики заболевания.

Отслеживание эпизоотической ситуации, определение этиологической структуры сальмонеллеза – необходимое условие и основание для конструирования новых и совершенствования применяющихся специфических препаратов для лечения и профилактики болезни. Не менее важным является необходимость углубленного исследования культурально-морфологических, биохимических, патогенных и антигенных свойств серовариантов сальмонелл, выделяемых от животных.

В этой связи целью нашей работы явилось выделение различных серовариантов сальмонелл из патматериала, полученного от телят различных хозяйств Республики Беларусь и изучение их биологических свойств.

При изучении литературных источников и анализе ветеринарной отчетности за 1999-2004г. было выявлено, что в Республике Беларусь сальмонеллез телят вызывали следующие сероварианты сальмонелл: *Salmonella dublin* в 53 % случаев; *Salmonella typhimurium* – 24,4%; *Salmonella enteritidis* – 11,7%; *Salmonella choleraesuis* – 2,13% случаев. На долю других сальмонелл (*S.london*, *S. humber*, *S. pullorum-gallinarum* и др.) выделяемость бактерий весьма незначительна и составила в общей сложности 8,77%.

Одной из причин низкой эффективности специфических препаратов является то, что производимые в настоящее время в РБ биопрепараты для активной профилактики сальмонеллеза не содержат в своем составе бактерий серотипа *Salmonella enteritidis*, а гипериммунная сыворотка для пассивной профилактики болезни и лечения больных животных – специфических антител против упомянутого сероварианта сальмонелл.

Поэтому, перед нами была поставлена задача, выделить *S. enteritidis* от павших телят, изучить морфологические, культуральные, биохимические и серологические свойства этого сероварианта сальмонелл, что является наиболее значимым при конструировании специфических препаратов, предназначенных для профилактики и лечении заболевания.

### Материалы и методы.

Исследование патологического материала от телят, выделение чистой культуры и ее идентификацию проводили согласно методическим указаниям «Лабораторная диагностика сальмонеллез человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды» утвержденным ГВ МСХ СССР (1990г.).

В качестве патологического материала мы отбирали кусочки селезенки, почки, печень с желчным пузырем и лимфатическими узлами, трубчатую кость, сердце перевязанное лигатурой у основания аорты. При подозрении на хроническую форму заболевания кроме перечисленных органов от телят брали измененные участки легких. Патологический материал подвергали бактериологическому исследованию не позднее 12 часов после отбора.

Морфологические и тинкториальные свойства возбудителя изучали в препаратах-отпечатках окрашенных по Граму.

Первичный посев материала (кроме печени) проводили на дифференциально-диагностическую среду Эндо или Левина. Печень растирали в ступке с небольшим количеством физиологического раствора, затем полученную суспензию высевали на среду Эндо и одновременно на МПА и МПБ. Посевы инкубировали в термостате 18-20 часов при температуре 37°C.

При подозрении на хроническое течение болезни кусочки патологического материала вносили в среду обогащения (селенитовый бульон), посевы помещали в термостат при температуре 37°C на сутки. Затем делали пересев на висмут-сульфит агар, который выдерживали в термостате 24-48 часов при температуре 37°C.

Из первичных посевов делали мазки, окрашивали по Граму, и изучали морфологические, тинкториальные свойства и чистоту культуры.

Изучение культуральных свойств возбудителя проводили на обычных (МПА, МПБ) и дифференциально-диагностических средах (Эндо, Левина, Плоскирева и висмут-сульфит агар). При этом на плотных питательных средах изучали размер, форму, цвет и край колоний, поверхность, их консистенцию и структуру. На жидких питательных средах учитывали характер и степень помутнения среды, образование осадка и поверхностной пленки.

Для изучения ферментативных свойств, производили посев выделенных чистых культур на полужидкие среды Гисса с индикатором ВР содержащих (глюкозу, маннит, сорбит, ксилозу, арабинозу, лактозу). Полученные результаты учитывали после инкубирования посевов в термостате при температуре 37°C в течение 20-24 часов. В положительных случаях при ферментации *S. enteritidis* цвет полужидких сред изменялся, в отрицательных оставался прежним.

В качестве дополнительных тестов для определения сахаролитических свойств выделенных культур использовали реакции с метиловым красным и Фогеса-Проскауэра. Для постановки этих реакций проводили посев выделенных культур на среду Кларка и инкубировали ее в течение двух суток при 37°C, затем пипеткой отсасывали 1 см<sup>3</sup> культуры в чистую пробирку для постановки реакции Фогеса-Проскауэра. В оставшуюся часть добавляли 5 капель индикатора 0,02% метилового красного, встряхивали и проводили учет, при положительных случаях среда приобретала красный цвет. К отобранному объему культуры добавляли 0,2 см<sup>3</sup> 40%-ного КОН, 0,5 см<sup>3</sup> 6%-ного спиртового раствора альфа-нафтола. Учет реакции проводили через 3-5 минут, в положительном случае среда приобретала розовое окрашивание.

Образование сероводорода определяли на агаре Клингера. При положительных результатах в столбике среды появлялось черное пятно.

Выделение индола проверяли при помощи реакции Легала-Вейля: к 2-х суточной бульонной культуре добавляли 5-6 капель 5%-ного раствора нитропруссиды натрия, 5-6 капель 40%-ного КОН и 6-7 капель 80%-ной концентрированной уксусной кислоты, встряхивали после каждого добавления компонентов. Учет реакции проводили сразу, в положительном случае бульон приобретал сине-зеленую окраску.

Для определения способности утилизировать цитратно-аммонийные соли производили посев выделенных чистых культур на цитратный агар Симмонса, который ставили в термостат при температуре 37°C. Учет вели через 24-48 часов, в положительном результате среда приобретала синий цвет.

Для определения выделения культурами уреазы производили посев на среду с мочевиной по Кристенсену, инкубировали в термостате в течение 24 часов при 37°C. При образовании уреазы, среда приобретала малиновый цвет.

Подвижность выделенных микроорганизмов определяли путем посева их уколом в полужидкий агар. Неподвижные бактерии росли по уколу, подвижные – по всему объему среды.

Антигенные свойства изучали в РА с применением диагностического набора агглютинирующих сальмонеллезных О- и Н-сывороток. Испытуемые культуры выращивали на скошенном мясо-пептонном агаре 18-24 часа при 37°C. Первоначально проверяли культуру сальмонелл с групповыми (поливалентными) сальмонеллезными агглютинирующими О-сыворотками в РА на стекле. При получении положительного результата с двумя сыворотками серогрупповую принадлежность устанавливали по табличным данным. Для определения серотиповой принадлежности выделенных культур сальмонелл их испытывали с Н-моносыворотками 1- и 2-й фаз. Постановку РА на стекле проводили следующим образом: из флакона пастеровской пипеткой набирали сыворотку, одну каплю которой наносили на предметное стекло. Бактериологической

петлей в нее вносили испытуемую агаровую культуру сальмонелл. Для постановки РА с О-сыворотками культуру брали с верхней части агара, с Н-сыворотками – с нижней, вблизи конденсационной жидкости. Петлю с культурой увлажняли в капле сыворотки, затем культуру тщательно растирали рядом с каплей, смешивали с сывороткой и энергично (несколько раз) покачивали стекло круговыми движениями. При положительной реакции агглютинация наступала сразу или в течение 1-2 минут. Агглютинация проявлялась в виде склеивания бактериальной массы и полного просветления жидкости.

Патогенность выделенных культур определяли на белых мышах массой 14-16 гр. Животных заражали смывом суточной агаровой культуры сальмонелл. Для смыва использовали стерильный физиологический раствор. Затем путем последовательных разведений получали взвесь содержащую 100 микробных клеток в 1 см<sup>3</sup>. Каждому животному полученную суспензию вводили подкожно в дозе 0,2 см<sup>3</sup>. За животными вели наблюдение в течение 10 дней. В положительном случае регистрировали гибель мышей и вели наблюдения в течение 5-7 биологический

Нами было исследовано 45 проб патологического материала. Из 19 проб были выделены чистые культуры сальмонелл. При серологической типизации были получены следующие результаты: *Salmonella* Dublin -34%; *Salmonella* typhimurium – 15 %; *Salmonella* enteritidis – 8,0 %; *Salmonella* choleraesuis и другие серотипы сальмонелл встречались в незначительных количествах. В связи с поставленной задачей мы провели опытную работу по изучению биологических свойств бактерий сероварианта *Salmonella* enteritidis.

Эти бактерии в препаратах-отпечатках из органов оказались грамтрицательными палочками, размером 2-3 x 0,2-0,5 мкм, в мазках располагались одиночно, беспорядочно и скоплениями неопределенной формы.

Микроорганизмы в мазках, из бульонных и агаровых культур, окрашенных по Граму имели вид грамтрицательных палочек с закругленными концами, расположенных одиночно и беспорядочно, не образующих спор.

На МПА бактерии образовывали округлые колонии до 3 мм в диаметре, серо-белого цвета с голубоватым оттенком. В мясо-пептонном бульоне рост микроорганизмов вызывал помутнение среды и образование серо-белого осадка на дне пробирки.

На агаре Эндо формировались мелкие (1-2 мм), с ровными краями и гладкой поверхностью бесцветные колонии. На висмут-сульфит агаре вырастали черные с металлическим блеском колонии, при этом участок среды под колонией прокрашивался в черный цвет. На среде Плоскирева образовывались мелкие, бесцветные, мутноватые, уплотненные, с ровными краями колонии. На среде Левина – прозрачные с легким фиолетовым оттенком, мелкие колонии.

При изучении ферментативных свойств *S. enteritidis*, отметили, что бактерии ферментируют глюкозу, маннит, сорбит, ксилит, арабинозу. Не разлагают лактозу и сахарозу.

Дополнительные тесты по определению сахаролитической активности выделенных культур давали положительную реакцию с метиленовым красным и отрицательную Фогеса-Проскауэра.

На агаре Клиггера через сутки инкубирования культуры в термостате отмечали образование сероводорода, что проявлялось образованием черного пятна и нарушением целостности среды.

Выделенные культуры утилизировали цитрат натрия на агаре Симмонса, в результате среда приобретала синий цвет.

При посеве культур на агар с мочевиной по Кристенсену образование уреазы не наблюдалось, т. е. среда не изменяла свой первоначальный цвет.

Постановка реакции Легалля-Вейля дала нам отрицательный результат, т. е. бульонная культура не приобретала сине-зеленую окраску, а значит выделенные бактерии не образуют индол.

При посеве на полужидкий агар наблюдался рост по всему объему среды, что указывало на подвижность выделенных бактерий.

Антигенную структуру выделенных чистых культур изучали в РА на стекле с О- и Н- агглютинирующими диагностическими сыворотками. При выборе сывороток для реакции исходили из антигенной структуры сальмонелл той группы, к которой относили определяемые культуры, с учетом вида исследуемого животного. Учет реакции производили сразу, при хорошем освещении с использованием лупы. Агглютинация проявлялась в виде склеивания бактериальной массы и полного или частичного просветления жидкости. При отрицательной реакции культура после тщательного смешивания с каплей сыворотки образовывала гомогенную взвесь. Выделенные культуры давали положительную РА с О9 и Н-9,т сыворотками. В результате серотипизации выделенные культуры были отнесены к *S. enteritidis*.

Определение патогенности полученных культур проверяли на белых мышах массой 14-16 гр. Гибель животных регистрировали на 2-е, 4-е и 5-е сутки после заражения, из органов павших мышей были выделены культуры с характерными свойствами для *S. enteritidis*.

Заключение. Результаты исследований показали, что выделенные нами из патологического материала культуры по своим морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам оказались типичными представителями рода *Salmonella*. При определении серотипа в 8 % случаев типировалась *S. enteritidis*.

Эти сведения в дальнейшем будут использоваться при конструировании специфических биопрепаратов для пассивной профилактики и лечения сальмонеллёза животных, что позволит получить гипериммунную сыворотку, содержащую в своём составе специфические антитела против упомянутого сероварианта сальмонелл. Таким образом, мы сможем получить препарат, содержащий в своём составе антитела против наиболее часто встречаемых в РБ серовариантов сальмонелл, что повысит лечебную и профилактическую эффективность применяемой в настоящее время сыворотки, которая не содержит в своём составе антител против *S. enteritidis*.

Литература. 1. Даровских, С.В. Культурально-морфологические и ферментативные свойства сальмонелл, выделенных от телят в хозяйствах РБ./ С.В. Даровских, О.Н. Сеница// Ученые записки УО ВГАВМ.- Витебск, 2004.- Т.40.- Ч.1.- С.298-299. 2. Даровских, С.В. Серогрупповая принадлежность сальмонелл, изолированных от телят в хоз-х РБ./ С.В. Даровских, О.Н. Сеница// Ученые записки УО ВГАВМ.- Витебск, 2004.- Т.40.- Ч.1.- С. 300. 3. Методические указания по лабораторной диагностике сальмонеллезов человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды: Утв. ГУВ МСХ СССР. – Москва: ВО «Агропромиздат», 1990.- 58 с. 4. Урбан, В.П. Болезни молодняка в промышленном животноводстве/ В.П. Урбан, И.Л. Найманов – Москва: Колос, 1984. – 207 с.

### СОВРЕМЕННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА (*Antheraea pernyi* G.-M.) В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ

Денисова С.И., Соболев З.Н., Литвенков А.А., УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»

Дубовый шелкопряд по оценке специалистов из всех диких шелкопрядов наиболее перспективен как для получения натуральных шелковых нитей, так и в качестве биологического сырья для производства медицинских и ветеринарных препаратов.

Из опыта мировых достижений (Китай, Япония) известно, что из куколки дубового шелкопряда получают лекарственные препараты, косметические средства, ферменты, пищевые продукты, кормовые добавки. В последнее время коконы дубового шелкопряда стали служить сырьем для изготовления шовного материала в глазной микрохирургии (Зотова, Шебеко, 1994). Поэтому исследование по расширению кормовой базы дубового шелкопряда за счет использования растительных ресурсов северо-востока Европы для получения дополнительных источников натурального шелкового сырья и сырья для фармацевтической промышленности весьма актуальны и перспективны.

В связи с этим нами разработана технология промышленного разведения моновольтинной породы дубового шелкопряда «Полесский тассар» не на дубе черешчатом, а на других кормовых породах древесных растений (береза повислая, береза пушистая, ива корзиночная, ива серая) (Денисова, 2002; Соболев, 1988; Литвенков, 1984). Технология выращивания дубового шелкопряда включает следующие этапы: производство грены; выкормка гусениц; сьем-сбор коконов.

Производство грены складывается из следующих основных моментов: инкубации коконов, скрещивания бабочек, или папильонажа, микроскопирования бабочек, очистки и дезинфекции грены.

Для обеззараживания грены используем созданные нами препараты растительного происхождения – водные экстракты коры дуба и березы вместо 4%-ного раствора формалина с добавлением 0,1% NaOH, применявшихся ранее (Сеницкий и соавт., 1952). Это обеспечивает снижение трудоемкости процесса обработки и повышение ее эффективности за счет подъема жизнеспособности гусениц, выхода качественных коконов и шелконосности.

Выкормка гусениц в промышленных условиях осуществляется следующим образом: гусеницы первого возраста помещаются в полиэтиленовые мешки с ветками кормовых растений для предотвращения их расползания. Затем их пересаживают на стеллажи инсектария под полиэтиленовой пленкой. На стеллажи раскладывают облиственные ветви в один слой, их следует располагать, приподнимая верхушки, и обязательно лицевой стороной листа вверх. Это уменьшает высыхание листьев из-за потери воды через устьица и облегчает смену подстилки. Смена подстилки на стеллажах производится по мере накопления объединенных веток. Запрещается проводить смену подстилки в период линьки гусениц. Перед сменой подстилки объединенные ветви покрывают облиственными и после переползания гусениц на эти ветви их переносят на свободные стеллажи. Для обеспечения полного переноса гусениц с подстилки эту манипуляцию повторяют 2-3 раза.

Облиственные ветви для гусениц заготавливают утром (до 9.00) и вечером (после 18.00). Корм рекомендуется содержать в затемненном прохладном месте в буртах высотой 1,0-1,5 м под полиэтиленовой пленкой. Для обеспечения длительного хранения корм опрыскивается 0,01% раствором перманганата калия. Корм гусеницам задают от 1 до 4 раз в день по мере их роста. По данным А.Г. Руднева (1976) для получения 300 кг коконов необходимо 6 т облиственных веток дуба. По данным наших исследований облиственных веток березы и ивы требуется больше – 9-10 т.