

*Str. agalactiae* в препаратах располагались цепочками по 5 – 10 кокков, одиночно, скоплениями неопределенной формы, были грамположительны. Бактерии хорошо росли в МПБ с глюкозой и дефибрированной кровью, образуя крупчатый осадок на дне пробирки, однако, не вызывали помутнения бульона. На глюкозо – кровяном агаре бактерии формировали мелкие (0,1 - 0,3 мм) прозрачные колонии, окруженные непрозрачной зоной гемолиза.

Микроорганизмы не содержат фермент каталазу, ферментировали глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, не разлагали сорбит, дульцит. В отношении других углеводов микробы были биохимически малоактивными.

*Str. agalactiae* при постановке биопробы вызывали гибель белых мышей на 3 - 4-ые сутки.

*Str. zoooepidermiticus* в препаратах – мазках из бульонных культур представлял собой скопления из 10–30 бактериальных клеток, окрашенных грамположительно. В бульоне с глюкозой и дефибрированной кровью через 24 часа инкубации стрептококки образовали хлопьевидный осадок при полном просветлении среды. На обычном агаре бактерии росли в форме едва заметных сероватых колоний, глюкозо – кровяном - агаре колонии были более крупные, вокруг них была хорошо заметна зона  $\beta$  - гемолиза. На цветном ряде Гиса с углеводами *Str. zoooepidermiticus* ферментировали глюкозу, галактозу, мальтозу, сорбит и непостоянно другие углеводы.

При заражении белых мышей бульонной культурой стрептококками этого вида, мышки погибали через 24 – 48 часов.

*Str. pyogenes*, *Str. agalactiae*. *Str. zoooepidermiticus* при постановке реакции претипитации с стрептококковыми групповыми диагностическими сыворотками давали положительную реакцию.

Необходимо отметить, что в опытах по выделению стрептококков из секрета больных маститами коров, весьма эффективной оказалась среда Карташовой. Среду готовили следующим образом: к 500 мл стерильного МПБ добавляли 2,5 г лактозы, 1 мл спирто-водного раствора в соотношении 1:100 бром-резол-пурпура (после растворения 1г порошка в 50 мл спирта добавляли 50 мл дистиллированной воды), затем колбу помещали в водяную баню и кипятили в течении 5-7 минут, после чего среду охлаждали до 50<sup>0</sup>С, добавляли 50 мл сыворотки и 50 ЕД неомицина. расфасовывали по пробиркам и использовали по назначению.

Кишечная палочка была выделена нами от 8-и коров, у которых наблюдалось воспаление всех долей вымени. В препаратах – мазках *E. coli* располагалась одиночно, попарно, имела закругленные концы, окрашивалась грамтрицательно. В обычном бульоне вызывала интенсивное помутнение среды. На среде Эндо *E. coli* образовывала колонии вишневого цвета, на среде Левина – темно-фиолетовые.

Кишечная палочка обладала высокой ферментативной активностью, давала положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную – Фогеса – Проскауэра. При внутрибрюшинном заражении белых мышей бульонной культурой *E. coli* наблюдали гибель животных в течение 24 - 48 часов.

*Staph. epidermitis* в препаратах из бульонной культуры располагались одиночно, короткими цепочками, кучками. Окрашивались микробы грамположительно. Стафилококки хорошо росли в МПБ, вызывая его помутнение с образованием обильного рыхлого осадка. На МПА бактерии образовывали крупные колонии диаметром 2-3 мм. Микробы разлагали глюкозу, мальтозу и другие сахара, не ферментировали раффинозу. При постановке биопробы мыши гибли в течение 2-3 суток.

**Заключение.** Проведенная опытная работа позволяет заключить, что этиологическая структура маститов у коров представлена стрептококками, стафилококками и эшерихиями.

ПОСТУПИЛА 24 мая 2007 г

УДК 619:579.842.11

## ТРЕБОВАНИЯ К ШТАММАМ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫМ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОЭШЕРИХИОЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ

<sup>1</sup>Медведев А.П., <sup>2</sup>Юдасин А.М.

<sup>1</sup>УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины

<sup>2</sup>УП Витебская биофабрика

*Изучены требования, предъявляемые к штаммам бактерии E. coli, применяемым для изготовления вакцин и сывороток. Они должны быть по тинкториальным, морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам характерными для рода Escherichia, вида - E. coli. Каждый штамм должен обладать определенной антигенной структурой, включать O-, K- и H-антигены, обладать титром в реакции агглютинации (РА) не менее 1:1600.*

*The requirements shown to culture of a bacterium Escherichia coli, applied for manufacturing vaccines and wheys are studied. They should be on tinctorial, morphological, cultural and enzymatic to properties characteristic for sort Escherichia, a kind Escherichia coli. Everyone culture should possess the certain antigenic structure, to include O-, K-and H-antigenes, to possess a credit in reaction of agglutination (PA) not less 1:1600*

**Введение.** Эшерихиоз (колибактериоз, колиинфекция, колидиарея, колисептицемия, энтеротоксемия) - инфекционная болезнь молодняка сельскохозяйственных и домашних животных многих видов, вызываемая энтеропатогенными эшерихиями различных серотипов.

Эшерихии широко распространены в природе и являются обитателями желудочно-кишечного тракта как больных, так и здоровых животных.

Болезнь регистрируют во многих странах мира, в том числе и в Республике Беларусь, где она по широте распространения занимает первое место среди бактериальных инфекций.

Самым действенным способом борьбы с эшерихиозом является специфическая профилактика болезни. В РБ УП «Витебская биофабрика» выпускает для активной профилактики болезни вакцину против колибактериоза (эшерихиоза) телят, поросят, ягнят, а для пассивной профилактики и терапии больных сыворотку поливалентную против колибактериоза (эшерихиоза) сельскохозяйственных животных.

Производство противозэшерихиозных препаратов как для активной, так и пассивной профилактики болезни и терапии животных неосуществимо без штаммов эшерихии.

К производственным штаммам предъявляются определенные требования.

Однако, публикуемые в различных литературных источниках работы по совершенствованию имеющихся и разработке новых противозэшерихиозных препаратов, не всегда содержат достаточно полную информацию о биологических свойствах производственных или же изолированных эпизоотических штаммов и предъявляемых к ним требованиям.

Поэтому, мы, опираясь на основательный производственно-практический опыт работы с производственными штаммами эшерихии сочли своим долгом опубликовать настоящую статью.

*Материал и методы.* Штаммы эшерихии, предназначенные для производства ветеринарных препаратов должны отвечать следующим требованиям.

В первую очередь, они должны быть по тинкториальным, морфологическим, культуральным и ферментативным свойствам характерными для рода *Escherichia*, вида - *E. coli*. Каждый штамм должен обладать определенной антигенной структурой, включать O-, K- и желателно H -антигены. Штаммы должны находиться в S форме. Степень диссоциации каждой новой генерации бактерий не должна превышать пяти процентов при просмотре и контроле колоний на плотной питательной среде (МПА). Штаммы должны иметь высокую энергию роста на обычных или специальных средах при реакторном способе культивирования, быть вирулентными для лабораторных и сельскохозяйственных животных и иметь один или же несколько факторов вирулентности (эндотоксин, ТС- и ТЛ - экзотоксины, адгезивные антигены, гемолизины).

С морфологической точки зрения штаммы эшерихий представляют собой полиморфные грамотрицательные палочки. Они имеют различную степень подвижности. Подвижность определяют путем посева в полужидкий агар или методом висячей капли. При росте в МПБ бактерии вызывают помутнение среды, образование пристеночного кольца и небольшого осадка. На МПА в чашках Петри через 16-18 часов культивирования эшерихий формируют круглые, выпуклые с гладкой поверхностью и ровными краями колонии (S форма).

Для определения диссоциации бактерий их выращивают 18-24 часов на МПА, смывают физиологическим раствором, доводят концентрацию до 1-2 млрд/см<sup>3</sup> и прогревают в водяной бане при 100°С в течение часа. Учет результатов прогревания ведут непосредственно после его окончания и через 24 часа выдержки пробирок со смывами при температуре 4-6°С. Культуры в "K" форме и переходной "O-K" форме агглютинируют и бактерии оседают в виде "зонтика" на дно пробирки. Такие культуры для приготовления препаратов не используют.

Сахаролитические свойства определяют на средах Гисса с углеводами и многоатомными спиртами. Эшерихий ферментируют глюкозу, лактозу, маннит, ксилозу, арабинозу, сорбит, непостоянно - сахарозу, рафинозу и дульцит.

Протеолитические свойства определяют путем посева *E. coli* в молоко и мясо-пептонный желатин. Эшерихий свертывают молоко и не разжижают желатин. Способность образовывать индол и сероводород определяют на бульоне Мартена или Хоттингера. Для этого между стенкой пробирки с питательной средой в которую засеяны бактерии и пробкой помещают индикаторные бумажки. Если растущая культура выделяет индол, то индикаторная бумажка приобретает сиреневый или малиновый цвет различной интенсивности, а если сероводород - бумажка чернеет.

Серогрупповую принадлежность культур эшерихий проверяют в реакции агглютинации с агглютинирующими O-коли сыворотками: 08, 09, 015, 020, 026, 041, 055, 078, 086, 0115, 0101, 0117, 0119, 0138, 0139, 0141, 0147, 0149, изготавливаемыми биологической промышленностью. Реакцию ставят в соответствии с наставлением, прилагаемом к набору сывороток.

Наличие адгезивных антигенов K 88, K 99, 987 P, A 41 и Ax 20 определяют в РА на стекле с сыворотками отечественного или импортного производства. Суточные культуры штаммов, выращенные на МПА - для антигенов K 88 и 987 P, а для антигенов K99, P41 и A1 20 на среде Минка, должны давать четкий крупноплачатый агглютинат на стекле в течение одной минуты.

Штаммы эшерихий должны быть вирулентными для лабораторных животных при внутрибрюшинном введении суточных агаровых культур. Для белых мышей и морских свинок ЛД50 не должна превышать 500млн. микробных клеток.

Токсичность штаммов определяется в тесте "изолированная петля кишечника поросенка", и выражается индексом дилатации, т.е. соотношением объема содержимого изолированной петли кишечника к её длине, который должен быть не менее 0,7. Для постановки упомянутого теста эшерихий выращивают на жидких средах Хоттингера, Мунделя, МПБ в течение 18-20 часов, затем центрифугируют в течение 20 минут при 6000 об/мин. Надосадочную жидкость прогревают в течение 30 мин и вводят в изолированную лигатурами петлю тонкого отдела кишечника поросят 10-14 дневного возраста. Животных перед операцией выдерживают на голодной диете 24 часа. Лапоротомию проводят под общим эфирным наркозом с соблюдением правил асептики и антисептики. Тонкий отдел кишечника делят лигатурами на участки длиной 8-10 см. В каждую вторую петлю инъецируют 1,0 см<sup>3</sup> прогретой надосадочной культуральной жидкости. В качестве контроля в сегменты вводят стерильные питательные среды. Через 24 часа после операции животных усыпляют и проводят вскрытие, измеряют объем жидкости в отдельных кишечных петлях.

Степень токсинообразования выражают индексом дилатации, который рассчитывают по формуле:

$$d = V / m, \text{ где}$$

d - индекс дилатации, V - объём жидкости, m - длина сегмента.

Индекс равный или больший 0,7 является свидетельством положительного, меньше 0,7 - отрицательного результата.

*Результаты исследований.* Методика определения токсигенности штаммов эшерихий в тесте "изолированная петля кишечника поросенка" сложная в техническом исполнении.

Поэтому, мы учитывая данные литературы, апробировали в производственных условиях методику определения токсигенности эшерихии на белых мышах. В опытах были использованы мыши массой 14-16 г и производственные штаммы эшерихии.

Эшерихии выращивали в бульоне Хоттингера и МПБ в течение 24 часов. Полученные культуры центрифугировали при 6000 об/мин и надосадочную жидкость вводили мышам интраплантарно в дозе 0,1 см<sup>3</sup>.

Перед центрифугированием культуры эшерихий проверяли на чистоту путем микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму. Кроме этого определяли концентрацию микробных клеток в культурах по стандарту мутности.

Результаты опыта представлены в таблице.

Таблица - Токсичность производственных штаммов эшерихии

Штаммы	Средний вес лапок мышей в мг при инъекции культур, выращенных на средах:					
	Бульон Хоттингера			МПБ		
	опыт	контр.	о-к	опыт	контр.	О-К
08	155	155	0	175	175	0
09	175	150	25	200	170	30
015	165	150	5	190	180	10
020	175	175	0	160	160	0
026	170	170	0	150	150	0
041	170	170	0	150	150	0
055	175	165	10	170	160	10
078	180	160	20	180	170	10
086	160	160	0	160	160	0
0101	175	170	5	150	150	0
0115	180	186	5	170	170	0
0117	150	150	0	170	170	0
0119	150	150	0	185	175	10
0138	165	165	0	175	175	0
0139	150	150	0	165	165	0
0141	170	166	5	170	170	0
0147	300	260	40	225	160	65
0149	235	160	75	210	160	50

Примечание: О-К - разница в весе лапок мышей опытной и контрольной групп в мг: на каждый штамм использовали 10 мышей.

Данные таблицы свидетельствуют, что при интраплантарном введении мышам надосадочной жидкости культур эшерихии отек лапок вызывает жидкость, полученная при выращивании 9-ти штаммов на бульоне Хоттингера (09, 015, 055, 078, 0101, 0115, 0141, 0147, 0149) и 7-ми - на МПБ (09, 015, 055, 078, 0119, 0147, 0149). Исходя из данных таблицы, можно отметить, что бульон Хоттингера является более оптимальной средой для выявления токсигенных свойств эшерихии.

Гемолитические свойства культур штаммов определяют на кровяном МПА с 5%-ным содержанием дефибринированной крови баранов. Штаммы 09, 015, 0101, 0119, 0138, 0139, 0147, 0149 обладают гемолитическими свойствами, а штаммы 08, 020, 026, 041, 055, 078, 086, 0115, 0117, 0141 не вызывают гемолиза на кровяном агаре.

Иммуногенность штаммов эшерихий определяют по высоте титра антител в сыворотке крови кроликов, иммунизированных инaktivированной культурой бактерий в концентрации 4 млрд/см<sup>3</sup>. Для инактивации применяют 0,2%-ный раствор формалина и 0,01%-ный раствор тиомерсала. Кролик массой 2,5-3 кг иммунизируют внутривенно в дозах: 0,3, 0,6, 1,0, 1,5 и 2,0 с интервалом в 3-4 суток, после чего берут кровь и с сывороткой крови ставят реакцию РА. В качестве антигена используют культуру бактерий, применяемую для гипериммунизации кроликов. Титр антител в I должен быть не менее, чем 1:1600.

Таким образом, прежде чем задействовать производственные штаммы эшерихий в технологическом

процессе изготовления противозщеришных препаратов, их проверяют на соответствие требованиям, указанным выше.

Литература: 1. Микробиология и иммунология./ А.А. Воробьев [и др.]. - М.: Медицина, 1999. - 464с.

ПОСТУПИЛА 25 мая 2007 г

УДК 378:619

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТЕРНЕТ-ТЕХНОЛОГИЙ И МЕДИЦИНСКИХ МЕДИА ПРИ ПОДГОТОВКЕ ВРАЧА ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Морозов Д. Д.

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»,  
Республика Беларусь

*В статье раскрыто понятие «медицинские медиа», приводятся преимущества применения Интернет – технологий и их влияние на образование, врачебную помощь в клиниках, научные исследования, что иллюстрировано примерами и намечен потенциал на будущее. Описаны возможности для создания, хранения, поиска, извлечения и распределения цифровых медицинских медиа.*

*In the article such new concept in veterinary medicine as “medical media” has been discovered and illustrated with the examples. Advantages and impact of Internet-technologies on education, clinical work and scientific researches have been shown. Facilities for producing, saving, searching, receiving and distributing of digital medical media have been described.*

Научно-технический прогресс и развитие информационных технологий все больше внедряются во все сферы деятельности человека, в том числе науку и образование. Сегодня уже нельзя представить многие составляющие учебного процесса, во всех без исключения ВУЗах, без применения компьютерных технологий. Если первоначально компьютерная техника применялась лишь для множительных целей, удобства подсчетов различных данных, то теперь она занимает позиции при изучении многих дисциплин ветеринарной медицины. В западных странах компьютерная грамотность на факультетах ветеринарной медицины встала на одну линию по значимости со знанием химии и биологии. Все студенты и сотрудники обязаны получить специальный сертификат о компьютерной компетенции. Более того, успех международного сотрудничества между университетами во многом зависит от вовлеченности и использования факультетами последних достижений информационных разработок.

В настоящее время на всех врачебных факультетах стран Западной Европы и Северной Америки отмечается снижение количества часов лекций и увеличение времени на самостоятельную подготовку, так как студенты, используя Интернет-технологии, имеют возможность многое детально изучить самостоятельно. В то же время преподаватели располагают большим временем для интерактивного общения во внутри-вузовской сети по ответам на вопросы и разрешению возникающих трудностей у студентов при изучении материала. Практика показала (на основании статистики посещения Интернет-сайтов), что за последние 5 лет, количество студентов, а также и преподавателей посещающих тот или иной локальный сайт многократно увеличилось, особенно в вечернее время, выходные дни и каникулы. Сайты многих университетов предоставляют право каждому заходить на них и пользоваться всей информацией совершенно бесплатно.

Знание английского языка, на текущем этапе, становится необходимым качеством для того, чтобы идти в ногу со временем, так как последний является международным средством общения во всем мире, и наибольший удельный вес всей информации в Интернете представлен на нем. И здесь на помощь приходят все те же Интернет-технологии, позволяющие выучить любой язык, не выходя из дома. Например, Интернет сайт Оксфордского университета, среди многочисленных других, предлагает бесплатное изучение английского языка по своим программам от начального уровня до самого продвинутого. (<http://www.oup.com/elt/global/products/naturalenglish/>)

Появились специальные аббревиатуры на английском языке в области компьютерных технологий в ветеринарном образовании, которые утверждены и понятны для ветеринарных специалистов во всем мире - пользователей Интернет-сети. Среди них можно выделить e-learning – электронное обучение, CAL (Computer-Assisted Learning) – обучение при помощи компьютера, CLIVE (Computer-Aided Learning in Veterinary Education) - обучение при помощи компьютера, специально предназначенное для ветеринарного образования.

Чтобы лучше представлять, как практически работают компьютерные технологии на факультетах ветеринарной медицины, приведем пример их зарождения и адаптации в учебный процесс в Британских ВУЗах.

CLIVE стартовал в Соединённом Королевстве еще в 1993 году. В него первоначально было инвестировано 35,2 млн. фунтов стерлингов, а в последующем ежегодно выделялось по 3,5 млн. для всех шести факультетов ветеринарной медицины (Bristol, Cambridge, Edinburgh, Glasgow, Liverpool, London) [16]. Целью этого проекта было утвердить и распространить электронное обучение на все дисциплины ветеринарной науки соответствующих факультетов. Данная программа ни в коем случае не была призвана заменить традиционное обучение, а лишь облегчить усвоение материала и использовать время преподавателям и студентам более эффективно. Интервьюирование студентов показало, 90,5% считают, что данная инновация