

Для прямого обнаружения возбудителей и их антигенов широко применяют метод флюоресцирующих антител (МФА), реакцию связывания комплекса (РСК), реакцию гемагглютинации (РГА) и ее различные модификации (РНГА, РЗГА).

Сравнительно недавно были разработаны радиоиммунный (РИА) и иммуноферментный (ИФА) анализы, которые явились прогрессивным шагом вперед в лабораторной диагностике инфекционных болезней не только животных, но и человека. Известно, что РИА выявляет больных бруцеллезом животных на 1,5-2 месяца раньше по сравнению с традиционными методами исследований (РБП, РА, РСК, РДСК).

Возможности РИА и ИФА значительно возрастают при применении для их постановки моноклональных антител (МКА), синтетических пептидов и антител к последним. Использование МКА имеет важное значение при изучении структуры антигенов, их выделении и очистке, изучении механизма взаимодействия возбудителей с клетками макроорганизма.

Самыми современными методами идентификации возбудителей инфекционных болезней и, следовательно, диагностики их, являются методы, основанные на обнаружении нуклеиновых кислот. На основании анализа нуклеиновых кислот можно определить индивидуальность любого организма. Известно, что эти методы являются трудоемкими и требуют высокой квалификации исследователей, но они очень информативны, обладают высокой чувствительностью и точностью. К этим методам относят метод ретракционного анализа, позволяющий идентифицировать микроорганизм даже по штаммовой принадлежности, метод мононуклеарной гибридизации, который основан на комплементарности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах.

Однако, самым чувствительным и перспективным оказался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). С помощью этой реакции можно выявить в исследуемом объекте даже единичные молекулы нуклеиновой кислоты.

Перспективным является метод, так называемой геномной дактилоскопии, который позволяет идентифицировать организм на родовом, видовом и на индивидуальном уровне. Этот метод дает возможность, например, дифференцировать возбудителей бруцеллеза, сибирской язвы и туберкулеза

даже по штаммовой принадлежности, что весьма важно при идентификации вакцинных и полевых штаммов, оценке эпизоотической ситуации.

На современном этапе развития ветеринарной вакцинологии многие вакцинные препараты готовят из ослабленных живых культур и выпускают в лиофилизированном виде. Лиофилизация удлиняет срок хранения препаратов, создает удобство при транспортировке и использовании. Однако массовое производство и применение живых вакцин в ветеринарии, наряду с достоинствами их выявило следующие недостатки: реверсия, длительная персистенция вакцинного штамма в организме, аллергия, реактогенность, выделение живых микроорганизмов в окружающую среду, что может иметь отрицательные последствия для людей и животных.

Отрицательным моментом при применении живых вакцин является проблема дифференциации вакцинированных животных от больных, вакцинных штаммов от эпизоотических.

В развитых странах, с учетом достижений молекулярной биологии, приступили к созданию вакцинных препаратов на основе антигенов, полученных методом химического синтеза, генетической и клеточной инженерии.

Современная наука в создании вакцинных препаратов выделяет следующие перспективные направления.

В настоящее время ведутся работы по получению специфических и иммуногенных белков из самих микроорганизмов, созданию рекомбинантных организмов, содержащих определенные гены, которые обеспечивают репродукцию поверхностных белков инфекционных агентов.

Перспективной является разработка химического синтеза пептидов, содержащих антигенные детерминанты инфекционных агентов, обеспечивающие выработку специфических антител. Не исключена возможность получения вакцин на основе фрагментов ДНК, встроенных в геном макроорганизма, создание специфических препаратов с помощью генетической инженерии мутантов микроорганизмов, утративших патогенность.

Реализация этих направлений позволит обеспечить животноводство страны высокоиммуногенными специфическими биопрепаратами нового поколения.

УДК 619:579.842.14

ИНАКТИВАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛ ДИМЕРОМ ЭТИЛЕНИМИНА

Медведев А.П., Иванова Т.П., Даровских С.В.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Специфическую профилактику многих болезней бактериальной и вирусной природы осуществляют инактивированными вакцинами. В качестве инактиватора традиционно используют формалин. Это вещество применяют и для инактивации культур сальмонелл при получении противосальмонел-

лезных вакцин и поливалентного антигена предназначенного для гипериммунизации продуцентов лечебно-профилактической сыворотки. Для инактивации допускается формалин, содержащий не менее 36% формальдегида. К культуре сальмонелл добавляют 0,3-0,4% формалина процесс инактивации

ции поводят в течение 20-25 суток при периодическом перемешивании культуры. Недостатком такого способа инактивации является его длительность. Кроме этого при использовании препаратов для активной иммунизации животных, в составе которых имеются микроорганизмы, инаktivированные формалином, зачастую регистрируют на месте введения ярко выраженный воспалительный очаг, что объясняется раздражающим действием формалина на окружающие ткани. Известно, также, что формалин обладает токсичным действием в отношении организма животного.

Поэтому цель данной работы – сокращение срока инактивации культур сальмонелл, выращенных на мясо-пептонном бульоне. Для достижения поставленной цели мы решили определить возможность использования для инактивации культур сальмонелл димер этиленimina (ДЭИ) и изучить влияние его на морфологию, антигенные и иммунные свойства бактерий.

Для экспериментов использовали культуры сальмонелл: *S. cholerae suis* 370, *S. dublin* 373, *S. typhimurium* 371, *S. abortus ovis* 372, выращенные реакторным методом. Культуры каждого вида бактерий разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации 10 млрд. м.к./см³, используя стандарт мутности.

Полноту инактивации определяли путем посева инаktivированных культур на мясо-пептонный бульон, отсутствие роста бактерий на питательной среде считали свидетельством полной инактивации сальмонелл.

Морфологию бактерий приготовленных из нативных и инаktivированных культур исследовали путем микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму.

Антигенную активность инаktivированных сальмонелл определяли в РА.

Для инактивации культур сальмонелл к ним добавляли 3% димер этиленimina. Предварительно рН культур доводили до 7,4-7,6. Процесс инактивации вели при температуре 37°C, постоянно перемешивая инаktivированные культуры.

В результате проведенной опытной работы были получены следующие результаты.

Продолжительность инактивации составила

для *S. cholerae suis* - 6 часов, *S. dublin* – 3, *S. typhimurium* – 3 и *S. abortus ovis* – 2,9 часа, т.е. роста бактерий на МПБ через указанные сроки не наблюдалось, что свидетельствовало о полноте инактивации бактерий.

Морфология инаktivированных сальмонелл была типичной для данного рода и вида бактерий. В поле зрения микроскопа наблюдали грамотрепетельные палочки с закругленными концами, располагающиеся одиночно, попарно и скоплениями неопределенной формы.

Активность сальмонелл, обработанных ДЭИ характеризовалась следующими данными: титр агглютининов в РА составил для *S. cholerae suis* – 1:1600, *S. dublin* – 1:600, *S. typhimurium* – 1:3200 и *S. abortus ovis* – 1:800. Такая же антигенная активность наблюдалась у культур сальмонелл инаktivированных формалином.

Из культур сальмонелл всех четырех серовариантов был составлен поливалентный антиген в соотношении 1:1, затем, антиген проверили на стерильность, безвредность и определили величину ЛД₅₀ для голубей и морских свинок (ЛД₅₀ для лабораторных животных составила в среднем 42-59 млн. м.к.).

Инаktivированный ДЭИ антиген использовали для гипериммунизации волов-производителей лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза животных.

Полученную от волов сыворотку проверяли на иммуногенную активность на белых мышах, голубях и морских свинок. Оказалось, что сыворотка от волов, гипериммунизированных экспериментальным антигеном не уступает по активности, сыворотке, полученной от животных, гипериммунизированных антигеном, инаktivированным формалином, т.е. величина ИД составила в отношении *S. cholerae suis* 0,3см³, *S. dublin* – 0,2см³, *S. typhimurium* – 0,2см³ и *S. abortus ovis* – 0,3см³.

Следовательно, проведенная экспериментальная работа позволяет заключить, что для инактивации культур сальмонелл целесообразно использовать ДЭИ. Применение этого вещества многократно сокращает продолжительность инактивации культур не изменяя морфологических и тинкториальных свойств бактерий, их антигенной и иммуногенной активности

УДК 619:579.862.1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СРЕПТОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Медведев А.П., Мисник А.М., Ковальчук С.Н.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Стрептококки, как и многие другие микроорганизмы, по степени их патогенности подразделяют на патогенные, условно-патогенные и непатогенные. Однако, такое подразделение их носит относительный характер [1]. Создание молочных ферм с высокой концентрацией животных привело к тому, что роль условно-патогенной микрофлоры в этиологии ряда болезней приобрела ведущее значение [2].

Основную роль в этиологии мастита коров на фермах принадлежит кокковой микрофлоре, представленной, в основном, стафилококками (61,8 %) и стрептококками (37,4 %), выделяемыми при бактериологическом исследовании, как правило, в монокультуре.

Наибольший удельный вес в этиологической структуре стрептококкового мастита занимает Str.