

Вывод: применение витамина А одновременно с противогрибковыми препаратами ускоряет сроки излечиваемости животных, больных различными формами трихофитии крупного рогатого скота в среднем на 8 – 12 дней и способствует нормализации гематологических и биохимических показателей у больных до уровня здоровых животных.

Литература: 1. Голубев И.А. Дерматофитозы животных / И.А. Голубев. – М.: Колос, 1970. – 192 с. 2. Иванова, Л.Г. Определение видов возбудителей дерматомикозов животных / Л.Г. Иванова // ВИЭВ. – 1978. – Вып. 32. – С.8-11. 3. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. – Мн.: Ураджай, 1993. – 288 с. 4. Курилова, Н.М. Кормление молодняка крупно-

го рогатого скота в агрофирме «Щапово» при заболевании трихофитией / Н.М. Курилова, О.П. Курилова, Н.Н. Шипилов // Актуальные проблемы в животноводстве. – М., 1998. – С.67-69. 5. Лабусова Н.И. Стимуляция поствакцинального иммунитета при трихофитии крупного рогатого скота: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.03 / Н.И. Лабусова. – Мн., 2004. – 21 с. 6. Медведева, Е.А. Лечение трихофитии, вызванной зоофильными трихофитонами, гризеофульвином и витамином А / Е.А. Медведева, Е.Д. Тимофеева // Вестник дерматологии и венерологии. – 1973. – №6. – С.67 – 70. 7. Петрович С.В. Микозы животных / С.В. Петрович. – М.: Росагропромиздат, 1989. – 173 с. 8. Саркисов А.Х. Диагностика грибных болезней животных / А.Х. Саркисов и др. – М.: Колос, 1971. – 144 с. 9. Экспериментальная витаминология (справочное руководство). – Мн.: «Наука и техника», 1979. – 552 с.

УДК 619:615.37

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕМБРАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ПОЛИСАХАРИДНОЙ ПРИРОДЫ

Вербицкий А.А., Зайцева А.В.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Для предупреждения возникновения возрастных критических иммунологических периодов эффективны, и, как правило, применяются препараты с воздействием на иммунную систему, это иммуноглобулины, препараты, полученные из тимуса, костного мозга, лимфоидной ткани, а также полисахариды различного происхождения (1, 2, 4). Эффективность препарата для иммунокоррекции на основе полисахаридов сальмонелл была продемонстрирована в работе Карпути И.М. и др., 2003. В республике на основе полисахаридов сальмонелл разработан препарат Сальмопул.

Препарат Сальмопул представляет собой полисахариднопептидную фракцию, полученную из биомассы сальмонеллезных бактерий серогруппы Д1 (ТУ РБ 300002681.019-2003). Сальмопул стимулирует: неспецифическую и специфическую гуморальную иммунную защиту – лизоцимную, бактерицидную активность сыворотки крови, образование иммуноглобулинов особенно класса G и A. Препарат усиливает лейкопоз, фагоцитарную активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов.

В ветеринарии Сальмопул применяется в качестве иммунокорректора для профилактики возрастных и приобретённых дефицитов и возникающих на их фоне желудочно-кишечных, респираторных и других болезней. Сальмопул применяют животным подкожно и внутримышечно, птице энтерально и аэрозольно (Карпуть И.М. и др. 2003). Парентерально препарат вводят в дозе 0,1 мл/кг массы двукратно с интервалами 7-9 сут.

Для профилактики возрастной и приобретённой иммунной недостаточности, возникающих на её фоне болезней с диарейным и респираторным синдромом препарат назначают в 3-5-дневном и 9-12-дневном возрасте телятам, 11-13-дневном и 19-21-дневном возрасте поросётам. Для профилактики возрастных и приобретённых иммунных дефицитов

у птиц и возникающих на их фоне желудочно-кишечных и респираторных болезней Сальмопул применяют энтерально с водой в дозе 0,5 см³ в 12-дневном возрасте и 1,0 см³ в 19-дневном на цыплёнка, а также аэрозольно из расчёта получения указанной дозы.

Цель настоящих исследований – разработка метода очистки и концентрирования полисахаридных комплексов из сальмонелл с использованием мембранной технологии.

Задача настоящих исследований: выбор ультрафильтрационных мембран, обеспечивающих оптимальную селективность и производительность процесса.

Материалы и методы.

В качестве источника полисахаридного комплекса использовали гидролизат культур сальмонелл серогруппы Д, выращенных на специально разработанных питательных средах.

Для оптимизации процесса использовали мембраны на основе полисульфонамида: УПМ-5; УПМ-10; УПМ-20; УПМ-50; УПМ-100 и УПМ-300. Очистку и концентрирование полисахаридсодержащего антигена сальмонелл производили на установке микро- и ультрафильтрации АСФ-009 и АСФ-007. Установка представляет собой систему фильтрации со сменными фильтрующими элементами в форме кассет (кассетными модулями) на основе двух типов плоских фильтродержателей.

Производительность установок по фильтрату составляет от 20 до 800 л/ч и зависит от типа мембранного фильтра-кассетного модуля, выбранного для конкретного случая.

Выбор фильтродержателя зависит от объёма фильтруемой жидкости:

а) от 20 до 100 л/ч

АСФ-009 (максимальное количество модулей 1-5 штук);

б) от 100 до 800 л/ч

АСФ-007(максимальное количество модулей 1-7 штук).

Установка состоит из узла микро- и ультра-фильтрации со сменными мембранными фильтрами, установленными в стальной фильтрдержатель, узла предварительной фильтрации с фильтром глубинного или мембранного типа, установленными в стальной или полипропиленовый корпус, нагнетательного насоса, измерительной, запорной арматурой (манометры, хомуты и т.д.), трубопровода и сборников для исходного и конечного раствора.

Модульная конструкция установки позволяет варьировать параметры процесса. С помощью фильтрующего кассетного модуля можно решить не только проблему получения стерильных и асептических растворов, но и их осветления.

Выбор площади фильтрующей поверхности от 0,1 м² до 4,9 м² позволяет приспособить систему к необходимым скоростям потока. Установка экономична, проста в эксплуатации, легко очищается и может быть подвергнута стерилизации текущим паром.

Эффективность работы мембран оценивали по производительности:

$$G=V/St,$$

где G- производительность мембран, дм³/м². ч;
S- поверхность фильтрации, м²;
t- время фильтрации, ч;
V- объём фургона, дм³

Селективность процесса ультрафильтрации рассчитывали по следующей формуле:

$$U = (A_u - A_n) / A_n \cdot 100\%$$

где A_n- активность препарата в исходном растворе в РИД;

A_u- активность препарата в концентрате в РИД.

Нами также изучено влияния на процесс ультра-фильтрации дополнительной очистки фугата перед концентрированием. Предварительную очистку производили на микрофильтрационных мембранах (МФАС) с различным размером пор: 3,0; 1,0; 0,4 и 0,22 мкм и фильтре ФПКН-3-0,5. В фильтре ФПКН-3-0,5 посылно расположены поры величиной от 20,0 мкм до 0,5 мкм.

Перед проведением работ определяли целостность используемых мембран. Для этого использовали метод проверки по точке появления пузырьков и по скорости диффузии. Проверке по точке появления пузырьков способствует тот факт, что жидкость в капиллярной трубке удерживается за счёт поверхностного натяжения. Минимальное давление газа, необходимое для вытеснения жидкости из трубки, непосредственно зависит от диаметра трубки.

Формула, соответствующая точке появления пузырьков:

$$P = 4K\sigma \cos\theta/d,$$

где P – давление, соответствующее точке появления пузырьков; d - диаметр пор; K – коэффициент, дающий возможность введения поправки на форму; θ - угол контакта жидкости с твердой средой; σ – поверхностное натяжение.

Проверка по точке появления пузырьков – визу-

альный способ. Влажный микропористый мембранный фильтр помещается в держатель и покрывается слоем воды. Под фильтр подавали сжатый воздух, давление которого постепенно повышали до значения, при достижении которого вода начинала вытесняться из пор с наибольшим эффективным диаметром. При достижении этой точки устойчивый поток пузырьков начинает проходить через слой воды покрывающей фильтр.

Проверка по точке появления пузырьков помогает выявить малейшие дефекты фильтра и несоответствие размеров пор. Результаты испытаний подтверждают данные, полученные при проверке способности к удержанию бактерий.

Проверка по точке появления пузырьков, проводимая непосредственно в ходе процесса, даёт возможность установить повреждённые мембраны, неэффективные уплотнители, утечки в системе. Кроме того, можно получать сведения о номинальном размере фильтра.

Для проведения проверки по точке появления пузырьков, выполняемый непосредственно в ходе процесса, давление газа вынуждает жидкость (имеющуюся в резервуаре, к которому подводится давление) полностью смочить мембранный фильтр.

После того, как вся жидкость оказалась прошедшей через мембранный фильтр, газ вступает в контакт с поверхностью фильтра. Когда приложенное давление достигало значения соответствующего точке появления пузырьков для данного фильтра, жидкость вытеснялась из пор фильтра.

Проверки оказались надёжными при проведении многих испытаний целостности фильтрующих устройств. В отдельных случаях при использовании фильтрующих систем, характеризующихся большим объёмом, проводили проверку по скорости диффузии.

В смоченный фильтр (к которому подведено давление газа) молекулы газа мигрируют через заполненные водой поры при уровнях дифференциальных давлений, оказывающихся ниже давления, соответствующего точке появления пузырьков. Прохождение молекул газа обуславливается процессом диффузии, согласно которому был сформулирован закон Фика. Предельная скорость диффузии для фильтра пропорциональна площади поверхности мембран в фильтре. В случае фильтров с очень малой площадью скорость потока воздуха очень низка, но в случае фильтров с большей площадью (используемых в системах, характеризующихся большими объёмами), скорость значительна и может измеряться в целях обеспечения чувствительной проверки целостности фильтра.

Проверка по скорости диффузии реализуется с использованием того факта, что газ способен проходить (за счёт диффузии) через поры полностью смоченного фильтра. Скорость диффузии пропорциональна дифференциальному давлению и площади поверхности. Когда давление начинает превышать характерные для точки появления пузырьков для данного фильтра, поток газа становится объёмным.

Диффузионный поток отличается от объёмного на несколько порядков. Поток газа ограничен диф-

ЭПИЗООТОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ

фузией через заполненные водой поры (при давлении ниже характерного для точки появления пузырьков, соответствующий испытываемому фильтру). При достижении точки появления пузырьков вода вынуждена выйти из пор, поток газа через фильтр становится объёмным.

Проверки по скорости диффузии проводили при давлении, соответствующем 80% характерного для точки появления пузырьков (характерной для испытываемого фильтра).

Когда под фильтром имелась жидкость, объёмную скорость потока газа определяли путём измерения скорости потока вытесняемой воды. Вытесняемую воду собирали в мерный цилиндр. С помощью секундомера измеряли скорость диффузии (по см³ воды за минуту). Эту скорость сопоставляли с эталонной, установленной для конкретной фильтрующей системы. Скорость диффузии контролировали и газовым расходомером.

Если имелись повреждения мембран или фильтры оказывались не с теми размерами пор или установлены недостаточно эффективные уплотнительные прокладки или если в системе имелась утечка, скорость потока (газа или воды) при таком уровне давления существенно увеличивалась.

Определение содержания сухих веществ, общего азота и аминного азота, pH, стерильности, безвредности и биологической активности полученных препаратов проводили согласно п. 4.1- п. 4. 9 ТУ РБ 300002681.019- 2003.

Результаты исследований

В технологическом процессе получения биологически активных препаратов широко используют ультрафильтрацию как для их очистки от низкомолекулярных примесей, так и для концентрирования. Проведение такой технологической манипуляции позволит сократить объём перерабатываемой жидкости в десятки раз, тем самым обеспечить более высокую эффективность оборудования.

Учитывая то, что полисахаридсодержащие комплексы сальмонелл обладают разными физико-химическими свойствами, включая молекулярную массу, конфигурацию молекул, содержание сухих

веществ, количество растворимых и взвешенных частиц, вязкость, наличие в растворе низкомолекулярных примесей, процесс ультрафильтрации необходимо разрабатывать индивидуально.

Предварительно приготовленные гидролизаты из сальмонелл очищали с помощью фильтроэлементов с разными характеристиками. В результате предварительных исследований установили, что более эффективна предварительная очистка на фильтре ФПКН-3-0,5. С помощью фильтра ФПКН-3-0,5 удалось снизить содержание взвешенных веществ в гидролизате и увеличить скорость ультрафильтрации в 2,0-2,2 раза.

Нами были изготовлены образцы полисахаридсодержащих препаратов:

Образец №1 – содержащий биомолекулы от 300КД и выше

Образец №2 – содержащий биомолекулы от 5 до 300КД

Образец №3 – содержащий биомолекулы от 100 до 300КД

Образец №4 – содержащий биомолекулы от 5 до 100КД

Образец №5 – содержащий биомолекулы от 5 до 20КД

Образец №6 – содержащий биомолекулы от 5 до 50КД

Образец №7 – содержащий биомолекулы от 20 до 50КД

Образец №8 – содержащий биомолекулы от 50 до 100КД

Активность полученных образцов полисахаридсодержащего препарата определяли в РИД. Для постановки реакции использовали гипериммунные кроличьи сыворотки к сальмонеллам серогруппы Д1 с титром РА 1: 400.

Результаты испытаний сведены в таблице 1. Из результатов сведённых в таблице видно, что наиболее высокая активность отмечена в образцах №2 и №4 – 1:64, образцы №6 и №8 реагировали в титре 1:32, а №5 и №7 – 1:16. Испытуемые образцы №1 и №3 проявляли весьма низкую активность 1:2.

Таблица 1 – Характеристика образцов препаратов на основе полисахаридов сальмонелл

Образец препарата	Титр РИД						
	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128
№1	+	-	-	-	-	-	-
№2	+	+	+	+	+	+	-
№3	+	-	-	-	-	-	-
№4	+	+	+	+	+	+	-
№5	+	+	+	+	-	-	-
№6	+	+	+	+	+	-	-
№7	+	+	+	+	-	-	-
№8	+	+	+	+	+	-	-

Из полученных результатов следует, что образцы, содержащие биомолекулы выше 100КД, практически инертны и, соответственно, должны быть исключены из препарата. Выраженный биологический потенциал содержится в биомолекулах молекулярной массой от 5 до 100КД. Фракционирование препарата, содержащего биомолекулы от 5 до

100КД, не целесообразно, так как активность проявляют биомолекулы в диапазонах 50 – 100КД и 5 – 50КД.

Заключение

Для получения полисахаридсодержащего препарата из сальмонелл с высокой биологической активностью и без балластных компонентов гидроли-

зат необходимо очищать и фракционировать с помощью мембран с селективностью 5 и 100КД.

Литератур: 1. Иммуностимуляторы в системе профилактики болезней свиней/В.П.Урбан, А.А.Буянов, А.Н.Гречухин и др. //Ветеринария. – 1992. - №12. – С.21-

23. 2. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка. – Мн.: Ураджай, 1993. – 288с. 3. Карпуть И.М. и др. Препарат сальмопул. ТУ РБ 300002681.019-2003 - Витебск, 2003г, с.16. 4. Прудников С.И. Иммуностимуляторы при профилактике болезни поросят//Ветеринария. – 1996. - №11. – С.13-17.

УДК 619;579.841.94

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БОРДЕТЕЛЛ

Вербицкий А.А., Стомма С.С.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Перевод свиноводства на промышленную основу выдвинул новые проблемы, связанные с сохранением животных. Качественно новые методы содержания и эксплуатации, которые характеризуются длительным пребыванием животных в закрытых помещениях, высокой концентрацией их на ограниченных производственных площадях, воздействием на организм многочисленных технологических стресс-факторов, обуславливают повышенную чувствительность свиней к неблагоприятным факторам, способствуют интенсивному обмену микрофлорой, пассированию ее через восприимчивых животных и усилению вирулентных свойств.

Одновременно многие свиноводческие хозяйства республики испытывают ряд экономических проблем, что связано с уменьшением уровня и качества кормления животных. При этом снижается иммунный статус организма животных и усложняется эпизоотическая ситуация. Все это явилось одной из причин возникновения в свиноводческих хозяйствах ранее не регистрируемых заболеваний, характеризующихся широким охватом восприимчивых животных за короткий промежуток времени.

Особенно большую опасность представляют респираторные болезни, так как при определенных условиях появляется возможность передачи возбудителей как воздушно-капельным путем, так и при прямом контакте больных и здоровых животных.

Неблагополучные по респираторным болезням свиноводческие хозяйства имеют низкую рентабельность, что отражается на этой отрасли животноводства в целом. Важную проблему составляют болезни, обусловленные условно-патогенными микроорганизмами, которые широко распространены в животном мире.

Одной из причин инфекционной патологии органов дыхания является *Bordetella bronchiseptica*. Заболевание, вызванное этим видом микроорганизма (бордетеллез, бронхосептикоз, бордетеллезная инфекция), зарегистрировано и описано в Германии, Великобритании, Польше, Норвегии, Франции, США, России, Украине, Республике Беларусь и других странах. Вместе с тем многие вопросы, касающиеся возбудителя и самой болезни остаются неизученными.

Бордетеллез (бронхосептикоз) свиней – *Bordetellosis suum* – инфекционная болезнь, характеризующаяся развитием катарально-гнойной пневмонии, сопровождающейся сухим кашлем, отставани-

ем в росте и развитии.

Возбудитель болезни – *Bordetella bronchiseptica*, согласно "Определителю бактерий Берджи", относится к царству Prokaryotae, отделу Gracilicutes, секции 4 – грамтрицательные аэробные/микроаэрофильные палочки и кокки.

Экономический ущерб от бордетеллезной инфекции значителен и складывается из потери племенных качеств животных, снижения прироста массы в результате плохого роста и развития переболевших поросят, гибели животных при осложненных формах болезни, затрат на проведение оздоровительных мероприятий.

Имеются сообщения, что бордетеллезная пневмония приводит к замедлению роста тела на 2,6%, снижению усвояемости кормов на 12%, в результате для достижения живой массы до 100 кг возникает необходимость удлинять сроки откорма на один месяц.

Исходя из этого, целью нашей работы явилось изучить биологические свойства выделенных нами бордетелл. Результаты этих исследований послужат для оценки роли бордетелл в заболевании свиней пневмониями и могут лечь в основу разработки методических рекомендаций по диагностике, профилактике и мерам борьбы с бордетеллезом свиней.

Материалы и методы.

Изоляцию *Bordetella bronchiseptica* проводили общепринятыми методами. Материалом для исследования служили участки пораженных легких на границе со здоровой тканью, бронхиальные лимфатические узлы, бронхиальная слизь, измененные участки трахеи, слизистой оболочки носа.

Посев производили на обогащенные питательные среды: мясо – пептонный бульон и мясо – пептонный агар с добавлением 5% сыворотки крови лошади, а также на казеиново – угольный агар. Кроме того, материал высевали и на простые МПБ и МПА. Посевы инкубировали на протяжении 24 – 48 часов при температуре 37°C.

Для получения чистой культуры бордетелл использовали метод Дригальского (метод пластинчатого посева).

Одновременно первично исследуемый материал изучали путем микроскопии мазков - отпечатков, окрашенных по Граму, для определения наличия и изучения морфологических форм микроба.

Тинкториальные свойства *B. bronchiseptica* изу-