

Из кафедры Микробиологии. И. об, зав. Михеев Н. И.

## **ОПЫТ ПРОВЕРКИ ПРОТИВОЧУМНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ИНФЕЦИРОВАННЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ СВИНЕЙ НА ОБНАРУЖЕНИЕ *Brucella suis*.**

*Михеев Н. И.*

Недостаточно изученной и освещенной главой бруцеллезной инфекции является заболевание свиней, которое имеет значительное распространение наряду с заболеванием других видов животных и людей во многих странах. Так, бруцеллез свиней широко распространен на всей территории Северо Американских Соединенных Штатов (Холдэльсон, Г Джонсон) и особенно в центральных штатах запада (Локкарт), значительно распространен в Давии (Томсон), Швейцарии (Фрей), реже встречается в Германии (Цвик Мисснер) и в ряде других стран.

Во всех зарубежных странах, имеющих бруцеллезную инфекцию и, в частности, свиней, проводимые мероприятия оказываются бессильными задержать неуклонное распространение инфекции. Причины такого массового распространения инфекции в капиталистических странах заложены в основе социальной природы системы хозяйства и проводимых мероприятий.

Бруцеллез свиней зарегистрирован, начиная с 1929 года, в отдельных свиноводческих хозяйствах и нашего Союза (экспедиция ВИЭВ 1929 г, кафедра микробиологии Витебского Ветинститута 1932 г., Панкратов А. Я., Степанов и Юранов и др.)

Неразработанность ряда вопросов инфекции, несовершенство методов диагностики, слабая эффективность профилактических и лечебных мероприятий затрудняют ведение решительной борьбы и тем самым прямо или косвенно влияют на распространение бруцеллезной инфекции. К числу слабо разработанных вопросов инфекционного аборта свиней необходимо отнести и пути распространения инфекции.

Американские исследователи Хэддельсон и Г. Джонсон, выясняя причины широкого распространения бруцеллеза в САСШ заподозрили в этом противочумные сыворотки и вируса, используемые от инфицированных свиней. Подобный взгляд поддерживался и в среде некоторой части научных и практических работников нашего союза.

Вопрос о роли противочумных прививок в распространении бруцеллезной инфекции имеет важное значение для тех стран, где биофабрики являются частновладельческими предприятиями и теряет свое значение в СССР, где выработка и контроль противочумных и вообще биопрепаратов подчинены обще-государственным интересам развития социалистического животноводства. Тем не менее, разработка выдвинутого вопроса имеет за собой научный интерес со многих точек зрения.

Прежде чем подойти к решению поставленного вопроса — не является ли противочумная сыворотка и вирус, используемые от инфицированных бруцеллезом свиней, распространителями инфекции необходимо выяснить: 1) находится ли и как часто, в какое время течения инфекции *Brucella suis* в крови инфицированных свиней и с помощью каких методов возможно ее обнаружение; 2) в случае положительного решения, т. е. нахождения *Br. suis* в крови больных свиней, проследить в дальнейшем — обеспечивает ли фильтрация сыворотки непроницаемость *Br suis* и какова его резистентность в консервированных биопрепаратах.

1. Хэддельсон и Джонсон заинтересовались вопросом — не обнаруживается ли в крови бруцеллезных свиней, дающих реакцию агглютинации высокого титра. возбудитель аборта свиней Подкожно заражая морских свинок кровью свиней, дающих реакцию агглютинации высокого титра. авторы ни в одном случае не обнаружили в крови *Br. suis*, в то время как при убое этих животных они во многих случаях культивировали из селезенки и лимфатических узлов возбудителя. Хотя указанные авторы в своих исследованиях и не обнаружили в крови инфицированных свиней *Br. suis*, но тем не менее этих исследований совершенно недостаточно чтобы исключить явление бактериэмии при бруцеллезе свиней

Сравнительное изучение бруцеллезной инфекции с.-х. животных и человека указывает, что по характеру течения инфекции, клиническим проявлениям и патолого-анатомическим изменениям заболевание свиней наиболее походит на заболевание людей.

Бруцеллезная инфекция у людей протекает при явлении бактериэмии, что позволяет применять наиболее точный метод диагностики этого заболевания — получения гемокультуры.

Явление бактериэмии наблюдается и при бруцеллезе у овец в первом периоде инфекции, когда возможно также получение гемокультуры (Вершилов и Тарасов).

Бруцеллез крупного рогатого скота значительно отличается по характеру течения инфекции, клинике и патолого-анатомическим изменениям от бруцеллеза свиней, но в то же время экспериментально при искусственном интравенозном заражении крупного рогатого скота культурой *Br. abortus* Целлером

(1931 г.) доказана возможность пребывания и нахождения возбудителя в крови зараженных животных.

Есть указания—Муррей и др., что явление бактериэмии наблюдается при бруцеллезе и у свиней. Разнообразие наблюдаемых поражений в органах и тканях, степень развития этих процессов и особенно разновременность их возникновения у бруцеллезных свиней находятся в зависимости от распространения возбудителя аборта свиней лимфо- и гематогенным путем.

*Bruc. suis* вызывает явление бактериэмии у морских свинок при различных методах искусственного заражения. (Кафедра микробиологии Вит. Вет. Ин-та—Мухин). Приведенные данные дают основание говорить, что и у свиней клинически больных, возбудитель аборта свиней также время от времени пребывает в крови, откуда не исключена возможность его поступления в биопрепараты.

2. На биофабриках для фильтрации сыворотки обычно пользуются фильтром „Зейтца“ с азбестовыми пластинками. В наставлении к этому фильтру всегда указывается, что он обеспечивает при правильном пользовании непроходимость видимых микробов. В исследованиях же Британского Ящурного Комитета по вопросу оценки достоинства различных фильтров говорится, что фильтры „Зейтца“ дают стерильные фильтраты только в том случае, если нагрузка на пластинку не превышает 20 куб. см слабо зараженной жидкости, не всегда задерживает *Bb. avi-septicus* в 10 куб. см. бульонной культуры и пропускает всех стафилококков бульонной культуры с нагрузкой до 100 куб. см. жидкости. *Br. suis* по своим размерам значительно меньше обычных стафилококков и приблизительно равен *Bb. avi-septicus* бульонной культуры. Малая величина возбудителя аборта свиней не исключает возможности его прохождения при фильтрации сыворотки через фильтр „Зейтца“, Сыворотка, полученная от инфицированных бруцеллезных свиней если и может содержать *Br. suis*, то в весьма малом количестве а отсюда и малая вероятность его прохождения при фильтрации. С другой стороны, если учесть длительность процесса фильтрования, обычную нагрузку на пластинку в работе биофабрик и различные возможные технические погрешности во время работы, то не исключена возможность прохождения *Br. suis* из зараженной сыворотки.

3. Резистентность *Br. suis* к различным физическим факторам и дезинфицирующим средствам и особенно в средах, содержащих белок, мало изучена. Полученные данные о стойкости возбудителя аборта свиней в консервированных сыворотке и вирусе несколько разноречивы. Так Хэддельсон и Джонсон в 1931 г. подвергли исследованию искусственно зараженные взвесью *Br. suis* сыворотку и вирус консервированные 0,5% фенола. Зараженные сыворотки и вируса авторы выдерживали на

леднике с температурой 15° С и путем дальнейших исследований установили, что в сыворотке возбудитель сохраняет жизнеспособность в течение 2-х недель, а в вирусе до 5-ти месяцев. В 1932 г. Парк и Грехем также подвергли выяснению сохранение жизнеспособности *Bg. suis* в искусственно зараженных биопрепаратах. В одном случае авторы брали свежую сыворотку и свежее дефибрированную кровь фенолизированные 0,5 проц. и искусственно заражали в количестве 80 млн. микробных тел на 1 куб. см. Зараженные препараты выдерживались частью при температуре ледника, частью при комнатной. Они установили, что *Bg. suis* сохраняет жизнеспособность при хранении на леднике в сыворотке до 82 дней, в вирусе же до 25 дней, в то время как при хранении в комнатной температуре возбудитель не обнаруживается в сыворотке на 45 день и в вирусе на 11 день. Эти исследования определенно указали на то, что *Bg. suis* длительно сохраняет жизнеспособность в консервированных биопрепаратах при принятых условиях хранения.

4. В 1930—1931 гг. Хэдельсон и Джонсон подвергли тщательному исследованию 5<sup>й</sup> серий противочумной сыворотки и 83 серии вируса, полученные в различные времена года. В своих исследованиях авторы пользовались образцами выпускаемых в продажу биопрепаратов. Применяя методы бактериологического исследования и подкожного заражения морских свинок авторы ни в одном случае не установили присутствия *Bg. suis* в исследуемых биопрепаратах. На основании своих работ они делают вывод, что присутствие *Bg. suis* в живом состоянии в противочумных биопрепаратах и распространение бруцеллеза путем их (препаратов) применения, представляется мало вероятным. Однако, авторы на ряду с высказанным не утверждают, что в продаваемых противочумных биопрепаратах никогда не встречается *Brucella suis*.

#### Наши исследования.

В 1933 г. мне представилась возможность произвести исследование с целью проверки на зараженность *Bg. suis* противочумные сыворотки и вируса, полученные с биофабрики № 5. На указанной фабрике комиссией Вет-Упра Наркомзема БССР, участником которой являлся и автор, по реакции агглюцинации и клинике была установлена бруцеллезная инфекция. Данные комиссии несколько позднее были подтверждены исследованиями Всесоюзного Контрольного Института. При обследовании свинопоголовья сывороточного и вирусного цехов методом реакции агглютинации был выявлен незначительный процент зараженности бруцеллезом.

Исследованию подверглись 6 серий сыворотки и 5 серий вируса различных сроков приготовления. Сыворотки № 8 от 15/VII—1932 г., № 9 —12/VIII, № 10—11/IX, № 11—26/IX, № 13—

22/X и № 14—12/XI 32 г. консервированы—0,5 ‰ фенола и вируса серии № 40 от 1/XII 32 г., № 41—17/XII, № 42—29/XII 32 г. и № 43 от 8/I 33 г. (не стерильный и служащий для цели гипериммунизации) № 43 от 12/I 31 г. консервированы—0,25 ‰ фенола.

Указанные серий сывороток получены главным образом от того поголовья свиней, которое подверглось исследованию на бруцеллез комиссией. Данных о проверке на бруцеллез свиноголовья, служившего для получения указанных серий вирусом, мы не имеем в связи с отсутствием таковых исследований на биофабрике. Консервированные сыворотки после контроля научной лабораторией подвергались фильтрации через фильтр „Зейтца“ с асбестовыми пластинками. Исследование проводилось на музейных профильтрованных образцах, которые сохранялись все время на биофабрике в комнате хранения биопрепаратов. Наибольший срок хранения исследуемых сывороток равнялся 7-ми месяцам, наименьший—2½ мес.; для вирусов наибольший—55 дней, наименьший—14 дней. Проверка проводилась методом бактериологического и биологического исследования

#### Методика исследования.

1) Бактериологическая часть исследований проводилась совместно с И. А. Каркадиновской.

Для исследования готовился скошенный в пробирках из свиной печени агар по методу Хедельсона с РН 6,8, который предварительно проверялся на рост *Bg. suis* путем засева имеющихся в кафедре штаммов. Из каждой в отдельности серии сыворотки и вируса стерильной градуированной пипеткой проводился посев по 1 куб. см. в 5 пробирок агара. Часть засеянных пробирок, помещенных в эксикатор, другая часть при обычных условиях культивирования ставилась в термостат при температуре 37°. Учитывая, что рост *Bg. suis* может быть значительно подавлен действием фенола из биопрепаратов, пробирки выдерживались в термостате в течение 3-х, а некоторые и 4-х недель с периодической проверкой каждые 3 дня. Параллельно с методом непосредственного посева сыворотки и вируса на печеночный агар был применен и метод накопления. Необходимость применения последнего была вызвана следующим соображением. Противочумные биопрепараты, полученные от инфицированных свиней, если и могут содержать *Bg. suis*, то в весьма и весьма малом количестве—отсюда желательно произвести посев большого количества сыворотки и вируса. Длительное воздействие фенола в биопрепаратах, наряду с уничтожением жизнеспособности возбудителя, производит как бы его „консервирование“, что замедляет развитие при культивировании—отсюда жидкая среда является наилучшей для выделения. Посев в больший объем питательной среды меньшего количества сыворотки и вируса уменьшает действие фенола при культивировании.

Приготовленный бульон из настоя печени с РН 6,8 разли-

вался в отдельные флаконы по 100 куб см. Во флаконы, которые служили для засева из нестерильных биопрепаратов, добавлялся тионин в количестве 1:10000 для задержания роста посторонних микробов. Из всех серий сывороток и вирусов стерильной пипеткой производился посев по 5 куб см. в отдельные проверенные на рост *Bg. suis* флаконы с питательной средой. Засеянные флаконы выдерживались в термостате в течение 4 недель. Наблюдение за ростом производилось через каждые три дня. Учет роста проводился макроскопически исследованием приготовленных мазков и высевов на печеночный агар в пробирках.

Применяя указанную методику бактериологического исследования ни в одном случае *Bg. suis* мы не обнаружили.

2) Биологический метод исследования проводился на морских свинках путем подкожного заражения. Перед заражением морские свинки проверялись на бруцеллез по реакции агглютинации. Под опыт взято 14 морских свинок, из которых 12 для исследования 6 серий сывороток и 2 для исследования вирусов. В последнем случае из 5-ти серий вирусов брали по 5 куб. см. и готовили смесь, которой и проводилось заражение. Заражение проводилось подкожно дважды с промежутком 2-х дней по 5 куб см. На 14, 24 и 36 дни с момента заражения бралась из сердца кровь и проверялась реакцией агглютинации. В период исследования проводилось наблюдение за морскими свинками. В начале и к концу исследования свинки взвешивались. Опыт заражения морских свинок см. таблицу.

№№ м. свин.	Вес до заражения	Р. агл. довар.	Инъекция I-ая		II-ая подк. инъекция чер. 2 дня		Р. агл. на 14 д. зар.		Р. агл. на 24 д. зар.		Р. агл. на 36 д. зар.		Вес к концу опыта
			Ко-лич.	№№ серии	Ко-лич.	№№ серии	$\frac{1}{10}, \frac{1}{20}, \frac{1}{40}$	$\frac{1}{10}, \frac{1}{20}, \frac{1}{40}, \frac{1}{100}$	$\frac{1}{10}, \frac{1}{20}, \frac{1}{40}, \frac{1}{100}$				
1	600,0	—	5 см <sup>3</sup>	сыв. № 8	5 см <sup>3</sup>	сыв. № 8	—	—	—	—	—	610,0	
2	615,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	620,0	
3	565,0	—	"	сыв. № 9	"	сыв. № 9	—	—	—	—	—	575,0	
4	525,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	532,0	
5	565,0	—	"	сыв. № 10	"	сыв. № 10	—	—	—	—	—	605,0	
6	495,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	515,0	
7	355,0	—	"	сыв. № 11	"	сыв. № 11	—	—	—	—	—	395,0	
8	445,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	410,0	
9	480,0	—	"	сыв. № 13	"	сыв. № 13	—	—	—	—	—	515,0	
10	610,0	—	"	сыв. № 13	"	"	—	—	—	—	—	605,0	
11	515,0	—	"	сыв. № 14	"	сыв. № 14	—	—	—	—	—	540,0	
12	460,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	542,0	
13	585,0	—	"	см. в ир.	"	см. вир.	—	—	—	—	—	665,0	
14	475,0	—	"	"	"	"	—	—	—	—	—	515,0	

Привитые морские свинки в период опыта нисколько не изменились в своем состоянии, не давали повышения температуры, а наоборот, благодаря хорошему уходу, кормлению все увеличились в весе. Проверкой по крови пробирочным методом реакцией агглютинации нами ни в одном случае не получено положительной реакции в разведении  $1/10$ ,  $1/20$ ,  $1/40$  и  $1/100$  у зараженных свинок.

Методом заражения морских свинок исследуемыми биопрепаратами нами также не установлена зараженность сывороток и вирусов возбудителем инфекционного аборта свиней *Br. suis*

### В ы в о д ы:

При исследовании 6 серий сывороток и 5 серий вирусов биофабрики № 5 различных сроков приготовления мы ни в одном случае не обнаружили в них *Brucella suis*.

Наши исследования не исключают возможности пребывания и нахождения *Br. suis* в противочумных биопрепаратах, полученных от инфицированных бруцеллезом свиней, так как исследуемые сыворотки имели длительный срок хранения до начала исследования, а вируса, возможно, были получены от здоровых, незараженных бруцеллезом свиней.

---

## **Versuche der Kontrolle von Virus Schweinepest-Impfstoffen welche von infizierten mit Brucellose Schweinen erhalten wurden, zum Nachweise das vorhanden seins der Brucella Suis.**

N. I. Michejew.

Die Brucellose der Schweine ist ziemlich verbreitet in verschiedenen Landem und auch in de L. S. S. R. Die Brucellose der Schweine ist noch wenig erforscht und nicht genügend die wege seiner Ausbreitung erklärt.

Die amerikanischen Forscher Chäddelson und Jonsen vermuteten das bie der verbreitung der Brucellose der Schweine eine Infektion mit viru-schweinepest Ipfstoffen befolgt die man von brucellosekranken Schweinen erhalten hat.

In den versuchen—Kontrolle des Serums und des virus der Schweinepeste von brucellosekranken Schweinen erhalten wurden.

Konnten sowohl die Americaner als auch der Autor die Brucella suis nicht nachweisen.

Diesse Frage muss deshalb als noch ungelöst betrachtet werden.

---