

инфекций у новорожденных телят / Ю. Г. Зелютков // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно, 2006. - Т. 3: Ветеринария. - С. 204-207. 4. Инфекционные энтериты новорожденных телят: монография / Ю.Г. Зелютков – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 188 с. 5. Куриленко, А.Н. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных / А.Н. Куриленко, В.Л. Крупальник. -М.: Колос, 2000.-144с. 6. Машеро В.А. Инфекционные болезни телят: Монография. – Витебск, УО ВГАВМ, 2006. – 263 с. 7. Рекомендации по специфической профилактике наиболее распространенных инфекционных болезней крупного рогатого скота в Республике Беларусь: утв. ГУВ МСХ иП РБ 18 января 2007 г. / В.В. Максимович [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 54 с. 8. Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней / П.А. Красочко [и др.]. – Смоленск, 2003. – 828 с.

Статья передана в печать 29.02.2012 г.

УДК 619:616.98:579.842.14:615.37

ДИМЕРЭТИЛЕНИМИН – СРЕДСТВО ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ И КОНСЕРВАЦИИ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Медведев А.П., Ходр Мунзер, Даровских С.В., Жаков В.М., Грибанова М.В.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Установлено, что димерэтиленимин является эффективным инактиватором сальмонелл и надежным консервантом сыворотки против сальмонеллеза животных.

It is established that an effective dimeretilenimin inactivatorom Salmonella and reliable conservative serum against Salmonella animals.

Введение. Антитоксическую поливалентную сыворотку против сальмонеллеза животных получают путем гипериммунизации волов. Для гипериммунизации применяют инаktivированный антиген, в состав которого входят сальмонеллы четырех серовариантов: *S.choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis*. Для получения бакмассы сальмонелл проводят их глубинное культивирование в реакторах. По окончании культивирования определяют чистоту культуры микроскопией препаратов-мазков, окрашенных по Граму, концентрацию бакмассы и производят ее серологическую типизацию. Затем выращенные культуры перекачивают в отдельный реактор, оборудованный механической мешалкой и электроподогревом, разводят до необходимой концентрации и добавляют инаktivирующее вещество.

В настоящее время для инаktivации культур бактерий применяют различные физические и химические средства: нагревание, ультрафиолетовые лучи, ультразвук, фенол, ацетон, этанол, препарат А-24, тиомерсал, формалин и т.д. Наиболее широко применяемыми для инаktivации микроорганизмов оказались формалин и тиомерсал. С помощью этих веществ инаktivируют культуры сальмонелл, эширихий, пастерелл, бордетелл, стрептококков и других бактерий. Традиционно самым востребованным инаktivатором является формалин с содержанием не менее 36% формальдегида. В последнее время для инаktivации культур сальмонелл применяют совместно с формалином тиомерсал. Формалин добавляют из расчета содержания его в культуре 0,3%, а тиомерсал в количестве 0,1г на литр культуры. Культуры после добавления формалина и тиомерсала выдерживают в реакторе в течение 20 суток при температуре 37-38 °С, перемешивая их не менее одного раза в сутки. Инаktivаторы должны обеспечивать надежную инаktivацию бактерий при минимально возможном повреждении их антигенной структуры. Формалин и тиомерсал надежные инаktivаторы, но при их использовании срок инаktivации является весьма продолжительным. К тому же, не исключена возможность повреждения антигенной структуры микробов этими веществами и, следовательно, снижения иммуногенной активности микроорганизмов, входящих в состав антигена, предназначенного для гипериммунизации волов-производителей лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза животных. Поэтому апробация других веществ для инаktivации сальмонелл, вытекающая из практики - настоятельная необходимость.

Для консервации биопрепаратов в ветеринарии и медицине используют различные вещества: формалин, хинозол, борную кислоту, мертиолят и т.д.

Сыворотку против сальмонеллеза животных, как и большинство лечебно-профилактических гипериммунных сывороток, консервируют чаще всего фенолом, который применяют в форме раствора 5%-ной концентрации. Раствор фенола добавляют из расчета 10см³ на 90см³ сыворотки. Этот способ консервации имеет существенные недостатки. Раствор фенола разбавляет сыворотку на 10% и тем самым уменьшает концентрацию в препарате противосальмонеллезных антител, к тому же фенол обладает раздражающим действием, что проявляется воспалительной реакцией при инъекциях сыворотки животным. Замена фенола другим консервантом очевидна.

Исходя из вышеизложенного, целью данной опытной работы явилось испытание других средств для инаktivации сальмонелл и консервации сыворотки против сальмонеллеза животных.

Материалы и методы исследований. В работе использованы: фенол, димерэтиленимин, контрольные штаммы сальмонелл, сыворотка против сальмонеллеза животных, белые мыши, морские свинки, голуби, питательные среды.

Полноту инаktivации культур сальмонелл проверяли путем высева их на питательные среды. По окончании срока инаktivации культуры бактерий высевали в две пробирки на скошенный МПА, в две – на МПБ и МППБ под вазелиновым маслом, в два флакона с каждой средой, и помещали их в термостат, поддерживающий температуру в пределах 37-38 °С. Через двое суток делали пересевы из первично засеянных флаконов с жидкими средами во флаконы с МПБ и МППБ под вазелиновым маслом. Результаты первичных посевов и пересевов учитывали.

вали, соответственно, через 10 и 8 суток. Отсутствие роста на средах считали свидетельством полноты инактивации бактерий.

Полноту инактивации токсинов определяли на белых мышах. Для этого 5 мышкам массой 18-20г. вводили внутрибрюшинно по 0,3 см³ инактивированной культуры. Токсин считали полностью инактивированным, если мыши оставались здоровыми в течение 3 суток наблюдения за ними.

Активность сыворотки в отношении *S.choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis* определяли по величине ИД₅₀ препарата для белых мышей. Для этого сыворотку вводили мышам подкожно в дозах: 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008 и 0,00016 см³. На каждую дозу использовали по 5 мышей. Заражение иммунизированных и контрольных мышей проводили внутрибрюшинно заранее подтитрованной дозой сальмонелл соответствующего серовара. Активность сыворотки в отношении *S.choleraesuis* определяли на голубях. Наблюдение за животными вели в течение 7 суток после падежа контрольных животных, отмечая павших и выживших. Расчет величины ИД₅₀ проводили по методу Кербера в модификации Ашмарина (1972 г.).

Результаты исследований. При обзоре литературы по затронутому вопросу наше внимание привлек водный раствор димерэтиленимина (ДЭИ). Этот раствор по внешнему виду – прозрачная бесцветная жидкость. Массовая доля димерэтиленимина в растворе не более 15%, водный показатель не более 13.

В биологической промышленности ДЭИ применяют для инактивации вирусов при получении инактивированных вакцин (против ящура, болезни Ньюкасла, ИРТ и т.д.)

Для апробации ДЭИ в качестве консерванта сальмонелл нами были взяты в опыт культуры *S.choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis* с концентрацией 10 млрд. м.к. в 1 см³. Каждую культуру упомянутых сероваров бактерий разделили на две равные части и к одной из них добавляли 0,1%, а к другой – 0,2% ДЭИ. Затем культуры бактерий выдерживали в термостате в течение 14 часов при 37-38⁰С. По окончании инактивации культуры сальмонелл проверили на полноту инактивации микробных клеток и их токсинов. Высевы культур на питательные среды не дали видимого роста сальмонелл, т.е. бактерии были полностью инактивированы. Белые мыши, которым ввели внутрибрюшинно по 0,3 см³ инактивированной культуры, оставались здоровыми в течение 3 суток наблюдения за ними, что является свидетельством полной инактивации токсинов сальмонелл. Следовательно, добавление к культурам сальмонелл ДЭИ в количестве 0,1% надежно инактивирует не только бактерии, но и их токсины.

Опытную работу по использованию ДЭИ в качестве консерванта провели в следующей последовательности. Для выбора минимальной консервирующей дозы ДЭИ его добавляли в пробы сыворотки из расчета 0,05: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4%, которые тщательно перемешивали и подвергали двухмесячному отстою. По истечении срока отстоя сыворотку всех проб исследовали на стерильность, безвредность и активность. Превентивную активность сыворотки определяли по величине ИД₅₀ для голубей и белых мышей. Во всех опытах в качестве контроля использовали пробу сыворотки, консервированную фенолом и взятую из того же сырья, что и пробы, консервированные ДЭИ.

Проба сыворотки, консервированная добавлением к ней 0,05% ДЭИ, оказалась нестерильной. Уже через двое суток выдерживания посевов в термостате при температуре 37-38⁰С наблюдали рост микрофлоры в питательных средах.

Образцы сыворотки с концентрацией консерванта 0,1; 0,2; 0,3 и 0,4% не дали роста микрофлоры на питательных средах в течение 10 суток наблюдения. Роста бактерий не было обнаружено также и в контрольной пробе препарата, консервированного 5%-ным раствором фенола. Следовательно, ДЭИ надежно консервирует сыворотку в концентрации 0,1%, что обеспечивает ее стерильность. Такое малое количество консерванта практически не разбавляет сыворотку и не снижает в ней концентрации специфических антител.

Одним из показателей качества сыворотки является ее безвредность. Безвредность всех проб препарата определяли на белых мышах и морских свинках. Мышам сыворотку вводили подкожно по 0,5 см³, а морским свинкам – по 10 см³. На каждую пробу препарата использовали пять мышей и трех морских свинок. За животными наблюдали в течение 10 суток. Все животные в течение этого срока наблюдения оставались клинически здоровыми.

Известно, что консерванты вступают в сложное физико-химическое взаимодействие с белками сыворотки, что зачастую (при избытке вещества) может явиться причиной токсичности препарата и снижения его иммуногенности. Проверка на безвредность показала, что сыворотка, консервированная ДЭИ, не обладает токсичностью. Однако нам необходимо было убедиться, что водный раствор ДЭИ в концентрации 0,1% не снижает специфической активности сыворотки. В этой связи мы в параллельном опыте определили ИД₅₀ сыворотки, консервированной ДЭИ и фенолом, на лабораторных животных. Результаты опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Активность сыворотки, консервированной ДЭИ и фенолом

Сальмонеллы	ИД ₅₀ сыворотки (см ³) для			
	белых мышей		Голубей	
	Сыворотка консервированная		Сыворотка консервированная	
	ДЭИ	фенолом	ДЭИ	Фенолом
<i>S. choleraesuis</i>	-	-	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,02
<i>S. dublin</i>	0,007 ± 0,001	0,008 ± 0,002	-	-
<i>S. typhimurium</i>	0,006 ± 0,001	0,008 ± 0,001	-	-
<i>S. abortusovis</i>	0,010 ± 0,002	0,012 ± 0,001	-	-

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что сыворотка, консервированная ДЭИ, не уступает по активности сыворотке, консервированной фенолом.

Заключение. Результаты проведенной экспериментальной работы позволяют заключить, что ДЭИ является эффективным инактиватором сальмонелл и надежным консервантом сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц.

Литература. 1. Ашмарин И.А. *Статистические методы в микробиологии*/ И.А. Ашмарин, А.А. Воробьев/ - Ленинград: Медицина, 1962. – 180 с. 2. Кржечковская В.В. *Лекарственные средства иммунной системы*/ В.В. Кржечковская. – Ростов: Феникс, 2006. – 285 с. 3. Медведев А.П. *Производство и контроль гипериммунных сывороток и иммуноглобулина против сальмонеллеза животных*/ Автореферат дис. канд. вет. наук/ А.П. Медведев. – Москва, 1998. – 31 с. 4. Медведев А.П. *Способ консервации сыворотки против сальмонеллеза животных*/ Авторское свидетельство № 1777886, 1.08.1992 г. 5. Соколов С.Г. *Использование бис-этиленмина этил-оксамида для инактивации пастерелл*/ Ветеринарная наука – производству. – Минск, 1987. – Вып. 25. – с. 39 – 42. 6. Соколов С.Г. *Способ инактивации пастерелл*/ Ветеринарная наука – производству. – Минск, 1988. – Вып. 26. – с. 54 – 58. 7. Медведев А.П. *Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток* / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. – Витебск, 2010 – 199 с. 8. Медведев А.П. *Противобактериальные лечебно – профилактические сыворотки*/ А.П. Медведев. – Витебск. 2007. – 379 с.

Статья передана в печать 13.02.2012 г.

УДК 619 : 636.09 : 616.98

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ИНФЕКЦИИ ПРИ ЛЕПТОСПИРОЗАХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ПРИЧЕРНОМОРЬЕ

Наконечный И.В.,

Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского,
г. Николаев, Украина

Современное существование возбудителей лептоспирозов на территории Северного Причерноморья обеспечено одновременно сапронозными, сапрозоонозными и зоонозными резервуарами и источниками возбудителя инфекции. Основное эпидемическое значение прочно удерживают природные и синантропические источники лептоспир, тогда как достоверные факты инфицирования человека в зоне антропогенных (фермских) очагов отсутствуют. Домашние животные и человек в равной мере подвержены угрозе заражения лептоспирами из двух основных источников – сапрозоонозных (в природе) и синантропических (на территории ферм).

The modern existence of leptospirosis in the territory of the northern Black Sea region granted concurrently sapronosis, saprozoonosis and zoonosis reservoirs and sources. The main importance of firmly holding onto an epidemic and natural sinantropic sources leptospir, while valid evidence of human infection in the zone of antropurgical (farmse) there are no hot spots. Pets and people alike face the threat of contaminating leptospirami with two main sources- saprozoonozycal (in nature) and sinantropicale (inside).

Введение. Лептоспирозы человека и животных на юге Украины сохраняют значение наиболее опасных природно-очаговых зоонозных нозозов [6], одинаково актуальных в эпизоотическом и эпидемическом отношении. При этом заметное совпадение волн активности инфекции в природе, синантропических и антропогенных очагах, а также близкая им амплитуда эпидинтенсивности лептоспироза прямо указывает на общность процесса. В то же время подобная взаимозависимость и признаки двухкомпонентности (наличие эпизоотического и эпидемического этапов) процесса более характерны для явных зоонозов (бруцеллез) [7] и в целом парадоксальны в отношении типично сапронозной нозозной формы, которой является лептоспироз [4].

Кроме того, ландшафтно-климатические условия Северного Причерноморья, расположенного в зоне аридно-степной зоны, далеки от оптимальных для интенсивной циркуляции гидрофильных патогенов, которыми являются лептоспиры [1]. В таких условиях стойкая напряженность эпизоотической ситуации по лептоспирозу в животноводстве и акцентированный рост эпидинтенсивности остаются непонятными. Поэтому целью данной работы является определение факта взаимосвязи между эпизоотическими процессами лептоспироза в очагах разных экотипов и напряженностью эпидемической ситуации.

Оценка указанных параметров при этом базируется на этиологической структуре возбудителей, совпадении основных серогрупп лептоспир в экологически разных объектах паразитирования (включая и человека), что позволяет предположить единую цепь их циркуляции. Соответственно, если эпидпроцесс лептоспироза в регионе проявляет двухкомпонентность (животные→человек), тогда и методы борьбы с ним будут отвечать таковым при типичных зоонозах. Отсутствие же двухкомпонентности указывает на явно сапронозный характер эпидпроцесса со всей соответствующей данной группе инфекций спецификой мер борьбы.

Материал и методы исследований. В территориальном плане под регионом Северное Причерноморье понимаем общую площадь Одесской, Николаевской и Херсонской областей. Учитывая наиболее выраженную однородность ландшафтно-климатических условий территории Николаевской области, почти полностью расположенной в зоне причерноморских степей, все исследования данной работы были ограничены площадями, определенными административными границами этой области.

Основными материалами для данной работы служили результаты собственных долговременных исследований (1994-2010 г.) по проблеме лептоспироза, выполненных в рамках темы «Экологические закономерности существования очагов природных бактериальных зоонозов на юге Украины» – государственная регистрация № 0108U002831. Кроме того, в качестве дополнительных материалов были использованы отчетные и литературные ретроспективные данные (с 1961 г.). Обобщенным анализом имеющихся материалов установлена динамика показателей эпизоотической и эпидемической интенсивности лептоспироза, серогрупповое распределение возбудителей, видовая специфика источников и резервуаров возбудителя инфекции, долговременная и сезонная активность очагов разных типов, а также оценены сравнительные титры антител у разных видов животных на определенных стадиях инфекционного процесса.