

Таблица 1 - Агглютинирующая активность сыворотки опытных и контрольной серий

№ серий	Титр агглютининов в отношении		
	S. dublin	S. typhimurium	P. multocida
1	1 : 1600	1 : 1600	1 : 1600
2	1 : 1600	1 : 3200	1 : 3200
3	1 : 3200	1 : 3200	1 : 3200
4	1 : 1600	1 : 1600	1 : 1600

Как свидетельствуют данные таблицы титр антител для сыворотки серии № 1 в отношении как сальмонелл, так и пастерелл оказался равным и составил 1 : 1600, титр агглютининов для сыворотки серии № 2 в отношении S. dublin составил 1 : 1600, в отношении S. typhimurium и P. multocida 1 : 3200. Агглютинирующая активность сыворотки серии № 3 в отношении сальмонелл и пастерелл оказалась равнозначной (титр 1 : 3200). Для препарата контрольной серии титр антител состав 1: 1600 в отношении всех антигенов, используемых в РА.

Приведенные данные показывают, что сыворотка против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота под воздействием реагента "Вид-А" не снижает своей агглютинирующей активности.

Результаты испытания сыворотки опытных и контрольной (серия 4) серий на активность представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Превентивная активность сыворотки опытных и контрольной серий для белых мышей.

№ серий	ИД <sub>50</sub> сыворотки (см <sup>3</sup> ) для мышей в отношении		
	S. dublin	S. typhimurium	P. multocida
1	0,15	0,16	0,15
2	0,14	0,13	0,14
3	0,15	0,16	0,14
4	0,15	0,16	0,15

Цифровой материал таблицы показывает, что сыворотка, как опытных, так и контрольной серий по величине ИД<sub>50</sub> для белых мышей является практически равнозначной как в отношении сальмонелл, так и в отношении пастерелл.

**Заключение.** Проведенная опытная работа позволяет заключить, что обработка гипериммунной сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота реагентом "Вид-А" не оказывают отрицательного влияния на стерильность, безвредность, агглютинирующую и превентивную активность препарата, но позволяет снизить концентрацию общих липидов в сыворотке, осветлить ее и улучшить товарный вид целевого продукта.

**Литература.** 1. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. – 704 с. 2. Бтохимия животных: учебник / А.В. Четкин [и др.] под ред. проф. А.В. Четкина. – М., Высшая школа, 1982. – 511 с. 3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. чл.-корр. РАН, проф. Е.С. Северина и проф. А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 448 с. 4. Жеребцов, Н.А. Биохимия: учебник / Н.А. Жеребцов, Т.Н. Попова, В.Г. Артюхов. – Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2002. – 696 с. 5. Кононский, А.И. Биохимия животных: учеб. пособие для вузов. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 432с. 6. Николаев, А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. 566 с. 7. Хазипов, Н.З. Биохимия животных: учебник / Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарова. – Казань: КГАВМ, 2003. – 312 с. 8. Алиев, А.А. Липидный обмен и продуктивность жвачных животных, - М: Колос, 1980.- 120 с. 9. Алиев, А.А., Мартюшов В.М. Десатурация стеариновой кислоты в процессе всасывания в кишечнике // Тез. докл. научно-произв. конфер. по овцеводству. – Ставрополь. – Тр. ВАСХНИЛ, 1980. – С 112. 10. Архипов, А.В. Обмен липидов у кур и влияние на него факторов питания: Автореф. дис. ...докт. биол. наук: 03.00.04/ МВА – М., 1977. – 41 с. 11. Бабина, М.П. Иммуный статус и состояние липидного обмена у цыплят – бройлеров при использовании пробиотиков / ВГАВМ. – Витебск, 1996. – Т.34.- С. 24-27.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619:579.842.14

#### ОПТИМИЗАЦИЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ В РЕАКТОРАХ

Медведев А.П., Кошнерова Л.А., Юдасин А.М., Жаков В.М.

УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»  
УО «Витебская биофабрика», г.Витебск, Республика Беларусь

*В данной работе изложены результаты исследований по оптимизации процесса глубинного культивирования производственных штаммов сальмонелл в реакторах.*

*In this paper we present the results of studies on optimization of submerged culture production of strains of salmonella in the reactors.*

**Введение.** В системе мероприятий по профилактике инфекционных болезней сельскохозяйственных животных, в том числе и сальмонеллеза, первостепенное значение имеет массовая вакцинация.

Для проведение активной специфической профилактики сальмонеллеза требуется значительный объем вакцин, промышленное производство которых не осуществимо без глубинного культивирования вакцинных штаммов сальмонелл.

Глубинный метод выращивания патогенных микроорганизмов в промышленных условиях впервые был апробирован Н.Е. Лебедевым в 1950 году. Внедрение его в промышленное производство явилось большим

достижением микробиологии, позволившим получать необходимое количество биомассы бактерий для изготовления требуемого для животноводства объема биопрепаратов.

В Республике Беларусь УО «Витебская биофабрика» выпускает для нужд животноводства следующие противосальмонеллезные биопрепараты: вакцину против сальмонеллеза телят, вакцину против сальмонеллеза поросят, вакцину ассоциированную против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней.

Для производства этих препаратов в вакцинном цехе биофабрики поддерживают и используют вакцинные штаммы сальмонелл: *S. Choleraesuis* 370, *S. Dublin* 373, *S. Typhimurium* 371. Культивирование микроорганизмов проводят глубинным методом в реакторах (ферментерах, биореакторах), которые наполняют жидкой питательной средой и засевают определенным штаммом сальмонелл. Эффективное культивирование бактерий зависит от качества питательной среды, температуры, pH среды и растущей культуры, посевной дозы, интенсивности аэрации и других факторов. Глубинное выращивание микроорганизмов представляет собой сложный биологический процесс, от рационального осуществления которого зависит объем получаемой в реакторе биомассы и ее качество.

Поэтому мы решили определить:

- влияние посевной дозы и фазы роста матровой расплодки на накопление сальмонелл в реакторе;
- динамику концентрации бактерий в зависимости от интенсивности аэрации и перемешивания растущей культуры;

- состав микробной популяции в зависимости от фазы роста;
- интенсивность накопления микробов при культивировании их в питательных средах из непищевого сырья и говяжьего мяса II категории.

**Материалы и методы исследований:** Известно, что количество посевного материала и возраст засеваемой в реактор культур в значительной степени могут влиять на динамику размножения сальмонелл и накопление биомассы при глубинном культивировании.

В соответствии с производственным регламентом по изготовлению вакцин против сальмонеллеза, в вакцинном цехе Витебской биофабрики, посевной материал выращивают в бутылках, содержащих 5 литров бульона питательной среды. Однако, при этом, остается неизвестной оптимальная величина посевной дозы и значение фазы развития засеваемой культуры.

Поэтому мы изучали влияние различных доз посевного материала, находящегося в фазе логарифмического роста и в стационарной фазе на динамику размножения производственных штаммов сальмонелл при периодическом культивировании их в реакторах. Для этого реакторы засеивали разными дозами матровой расплодки: из расчета 50, 100, 250, 500млн. бактерий на 1 см<sup>3</sup> питательной среды, общий объем которого составлял 5 литров. В процессе культивирования через каждый час брали пробы, определяли число живых клеток, время достижения максимальной концентрации бактерий, скорость размножения.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что посевная доза матровой расплодки в 50 млн/см<sup>3</sup> находящейся в фазе стационарного роста была не вполне эффективной для выращивания всех вакцинных штаммов сальмонелл (*S. choleraesuis* 370, *S. dublin* 373, *S. typhimurium* 371).

Длительность лаг-фазы была примерно одинаковой для всех культивируемых штаммов бактерий и составила в среднем 3,6-4,1 часов, концентрация микробов нарастала по мере увеличения срока культивирования и достигла максимального значения через 15 часов, составив для *S. choleraesuis* 370 – 25 млрд микробных тел в 1см<sup>3</sup>, *S. dublin* 373 – 22 млрд./ см<sup>3</sup>, *S. typhimurium* 371 – 26млрд./ см<sup>3</sup>; а скорость размножения 3,2-3,9 генераций в час.

Использование матровой расплодки для засева питательной среды в реакторе в 50млн./ см<sup>3</sup>, но находящейся в экспоненциальной фазе роста, привело к сокращению продолжительности лаг-фазы в среднем на 18-20%, позволило увеличить максимальную концентрацию сальмонелл на 20-22%, скорость размножения на 7-9%.

Увеличение посевной дозы до 100 млн/ см<sup>3</sup> интенсифицировало динамику размножения вакцинных штаммов, сокращало продолжительность лаг-фазы в 1,2 раза и время достижения максимальной концентрации до 12 часов, а скорость размножения увеличилась на 10-12%.

Дальнейшее увеличение посевной дозы от 250 до 500 млн/ см<sup>3</sup> микробных клеток не привело к оптимизации процесса глубинного культивирования сальмонелл в реакторе.

Следующим этапом экспериментальной работы явилось выяснение влияния режима аэрации и перемешивания на размножение сальмонелл в реакторе.

С целью выбора оптимального режима аэрации и перемешивания в реактор с растущей культурой подавали воздух из расчета 1,2 и 3 литра на 1 литр питательной среды, при этом, каждому режиму аэрации соответствовало вращение механической мешалки со скоростью 60, 120 и 180 оборотов в минуту.

**Результаты исследований.** В результате опытной работы установлено, что выращивание бактерий штамма *S. choleraesuis* 370 при аэрации из расчета 1л. воздуха на 1л. среды было недостаточным при всех выше упомянутых скоростях вращения электромеханической мешалки (табл.1).

Таблица 1 – Концентрация бактерий *S. Choleraesuis* 370 в зависимости от интенсивности аэрации и перемешивания растущей культуры.

Режим аэрации (л. Воздуха на л. среды в мин.)	Режим перемешивания (об./мин.)	Концентрация сальмонелл (млрд./ см <sup>3</sup> ) в различные сроки культивирования(часов)						
		2	4	6	8	10	12	14
1	60	0,2 ± 0,03	0,4 ± 0,12	1,4 ± 0,3	10,3 ± 0,1	15,0 ± 1,0	20,0±0,1	21,0±0,12
	120	0,4 ± 0,06	0,8±0,05	3,2±0,5	11,2±0,3	18,0±0,5	22,1±0,3	22,1±0,1
	180	0,8 ± 0,1	1,2±0,03	4,2±0,4	12,4±0,1	20,0±0,1	21,0±0,1	23,1±0,2

Продолжение таблицы 1

2	60	1,1±0,1	3,2±0,05	6,1±0,02	12,0±1,0	15,1±1,2	23,2±1,0	25,1±0,5
	120	1,2±0,1	4,4±0,06	9,8±0,3	14,2±0,5	17,2±0,1	25,1±0,1	26,0±0,2
	180	1,3±0,02	5,2±0,1	10,1±0,5	18,3±1,1	20,2±0,5	26,0±0,2	27,1±0,3
3	60	1,0±0,2	3,1±0,06	6,2±0,1	13,0±0,01	14,3±1,0	24,1±0,2	24,5±0,5
	120	1,3±0,01	4,2±0,2	10,1±0,2	14,1±0,6	18,1±0,1	25,0±0,3	27,1±0,2
	180	1,2±0,2	4,8±0,3	9,9±0,04	17,5±0,5	20,1±0,6	26,3±0,1	26,0±0,4

Из таблицы 1 видно, что концентрация сальмонелл при подаче 1л. воздуха на 1л. среды к концу культивирования (через 14 часов) составила при работе мешалки со скоростью 60 об./мин. – 21,0± 0,1 млрд/см<sup>3</sup>, 120 об./мин. - 22,1±0,1 млрд/см<sup>3</sup>, 180 об./мин. - 23,1±0,2 млрд/см<sup>3</sup>.

Наиболее интенсивное накопление бакмассы было получено при подаче 2л. воздуха на 1л. среды в реактор и вращении мешалки со скоростью 120-180 об./мин. Так, данные таблицы свидетельствуют, что через 14 часов от начала выращивания концентрация бактерий в реакторе с упомянутым режимом аэрации и перемешивании составила 26,0±0,2 - 27,1±0,3 млрд/см<sup>3</sup>.

Материал таблицы 1 показывает, что дальнейшее увеличение аэрации не вызвало повышения концентрации *S. choleraesuis* 370 в питательной среде.

При глубинном культивировании двух других вакцинных штаммов (*S. dublin* 373, *S. typhimurium* 371), при тех же режимах аэрации и перемешивания питательной среды, были выявлены аналогичные закономерности в динамике размножения бактерий и нарастания их концентрации в процессе выращивания.

В опытах по культивированию вакцинных штаммов изучали так же состав микробной популяции в зависимости от фазы роста.

В логарифмической фазе, стационарной и фазе гибели клеток определяли общее число бактерий, число живых и отмерших сальмонелл.

Нами установлено, что наименьшее количество отмерших бактерий для всех вакцинных штаммов было в экспоненциальной фазе роста и не превышало 3,8%.

В стационарной фазе количество живых сальмонелл достигло максимума, однако, и число отмерших микробов, также было значительным, составив 22%. В фазе гибели клеток число отмерших бактерий к концу культивирования равнялось 28%.

В параллельных опытах мы провели изучение динамики размножения вакцинных штаммов сальмонелл, используя при этом бульон Хоттингера из говяжьего мяса II категории и среды из непищевого сырья – мяса волов продуцентов гипериммунных сывороток и овец-доноров крови, выбракованных и убитых в связи с истечением срока их эксплуатации.

Культивирование проводили в реакторах в соответствии с производственными регламентами по изготовлению вакцин против сальмонеллеза, а также с учетом собственных данных по оптимизации процесса глубинного выращивания производственных штаммов.

Расплодки посевного материала для засева брали в фазе экспоненциального роста, засев проводили из расчета 100 млн. микробных тел на 1 см<sup>3</sup> питательной среды. Культивирование в реакторе вели в течение 16 часов с постоянным перемешиванием со скоростью 120-180 об./мин. и непрерывной подачей воздуха из расчета 2л. на 1л. питательной среды.

Через каждый час культивирования брали пробы для определения pH, чистоты роста и концентрации микробных тел.

При смещении pH в щелочную сторону добавляли в реактор стерильный 40%-ный раствор глюкозы, а в случае снижения концентрации водородных ионов, вносили в растущую культуру 10%-ный раствор натрия гидроксида, устанавливая pH в пределах 7,4-7,6.

В процессе реакторного выращивания штаммов сальмонелл на разных питательных средах были получены следующие результаты.

Начало роста бактерий зарегистрировано через 3 часа после засева их в реакторы, как в контрольной среде, приготовленной из качественного мяса, так и в опытных средах из мяса волов и овец.

С увеличением продолжительности культивирования постепенно нарастала концентрация микробных тел во всех средах. Через 6 часов от начала выращивания концентрация растущей культуры бактерий *S. choleraesuis* 370 в контрольной среде составила 10 млрд./см<sup>3</sup>, через 8 часов – 12 млрд./см<sup>3</sup>, 10 часов – 21 млрд./см<sup>3</sup>, а через 16 часов – 26 млрд./см<sup>3</sup>. В отношении *S. dublin* 373 и *S. typhimurium* 371 наблюдалась, примерно, такая же динамика роста микроорганизмов.

В бульоне из мяса волов и овец рост всех штаммов сальмонелл был менее интенсивным, чем в контрольной среде. Так концентрация растущей культуры бактерий *S. choleraesuis* 370 в контрольной среде спустя 6 часов от начала засева составила 8 млрд., 8 часов – 10 млрд., 10 часов – 19 млрд., 16 часов – 24 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>.

Концентрация штаммов *S. dublin* 373 и *S. typhimurium* 371 нарастала в процессе культивирования с такой же интенсивностью, что и штамма *S. choleraesuis* 370.

Существенной разницы между накоплением микробных тел при культивировании вакцинных штаммов сальмонелл на питательной среде, приготовленной из мяса волов и мяса овец, мы не зарегистрировали.

**Заключение.** Проведенная опытная работа позволяет утверждать, что процесс реакторного глубинного культивирования сальмонелл будет более рациональным, если использовать матровую расплоду среды в фазе экспоненциального роста из расчета 100 млн. микробных тел на 1 см<sup>3</sup> среды в реакторе, подачу воздуха 2л. на 1л. среды в минуту, вращение мешалки со скоростью 120-180 об./мин.

Необходимо отметить, что интенсивность роста бактерий на опытных средах была несколько ниже, чем на контрольной. Однако, накопление их бакмассы вполне соответствуют требованиям нормативно-технической документации по изготовлению инактивированных вакцин против сальмонеллеза животных. Следовательно,

питательные среды из непищевого сырья пригодны для промышленного культивирования вакцинных штаммов сальмонелл.

**Литература.** 1. Заерко, В.И. Система культивирования микроорганизмов /В.И. Заерко [и др.]// Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее. – Щелково, 2004. – с.110-113. 2. Карпов, Л.А. Масштабирование процессов культивирования микроорганизмов /А.А. Карпов, Е.А. Рубин, А.Я. Самуйленко.//Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее.-Щелково, 2004. – с.190-192. 3. Кисленко, В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология. В.Н.Кисленко, Н.М. Колычев. – ч.1. Общая микробиология. – Москва: Колос, 2006. – 184с. 4. Вербицкий, А.А., Медведев, А.П. Питательные среды и культивирование микроорганизмов. Витебск, ВГАВМ. -2008.-236с.

Статья передана в печать 3.01.2011 г.

УДК 619: 616.9: 636. 934.57

## ОСОБЕННОСТИ АССОЦИАТИВНОГО ТЕЧЕНИЯ КОРОНА- И ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТОВ У ЩЕНКОВ КИНОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА ПОГРАНИЧНОЙ СЛУЖБЫ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Михайлова-Кузьмина А.В., Антонов А.А.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

*Ассоциированное течение парвовирусного и коронавирусного энтеритов у щенков в условиях питомника характеризуется тяжелыми поражениями желудочно-кишечного тракта, паренхиматозных органов и иммунной системы. Основная профилактика заключается в применении комплексных вакцин, содержащих компоненты против кишечных вирусных инфекций, создание условий для формирования напряженного иммунитета и защита питомников от заноса возбудителя.*

*Associate for parvoviral enteritis and coronavirus puppies in the kennel is characterized by severe lesions in the gastrointestinal tract, parenchymal organs and immune system. The main prevention is the use of complex vaccines containing components against intestinal virus infections and to create conditions for the formation of the immunity and protection against the introduction of nursery pathogen.*

**Ведение.** Служебные собаки в современных условиях считаются незаменимыми помощниками в вопросах организации защиты государственной границы, обеспечения национальной безопасности и поддержания правопорядка. Нарушение правил содержания, кормления и различные инфекции могут стать причиной заболеваний служебных собак, надолго вывести их из строя и привести к гибели. Болезни наносят большой экономический ущерб, приводят к утрате рабочих и служебных качеств у собак, снижают боеготовность подразделений.

Вирусные энтериты представляют большую угрозу здоровью собак, вызывая массовые заболевания и высокую летальность особенно среди щенков раннего возраста. Важную роль в формировании иммунной защиты у щенков играют полноценное и сбалансированное питание, оптимальные условия содержания и правильная организация вакцинопрофилактики у племенных сук и молодняка после отъема [6]. Однако не всегда соблюдение инструкции по применению вакцины обеспечивает надежную защиту щенков. Причиной тому могут стать различные факторы, в том числе снижение собственного естественного иммунитета или иммунитета матери, в результате чего щенок получает низкий уровень колостральных антител, не способных обеспечить его защиту от инфекции. Следующим фактором является возможный занос инфекции с посторонними лицами, посещающими питомник (экскурсии, делегации, в том числе из-за рубежа) и контактирующими со щенками. А также завоз взрослых собак и щенков, которые являются потенциальными вирусносителями из других регионов. Постоянному перезаражению и пассированию инфекционных агентов способствует высокая концентрация собак на ограниченной территории.

Все эти факторы создают благоприятные условия для возникновения и быстрого распространения инфекционных болезней среди служебных собак в условиях питомника. Примером тому явилось массовое заболевание и гибель щенков 2-х месячного возраста с признаками вирусной кишечной инфекции.

Парвовирусный энтерит – высококонтагиозная вирусная болезнь собак, характеризующаяся в основном острым геморрагическим энтеритом, обезвоживанием организма, лейкопенией и **миокардитом** [7]. Заболеванию подвержены собаки любого возраста, но наиболее восприимчивы к болезни щенки в возрасте от 2 до 16 недель. Это объясняется тем, что возбудитель особенно быстро размножается в клетках с высоким уровнем митоза (основная форма клеточного деления), а у щенят в возрасте до 4 недель активно делятся клетки миокарда, клетки лимфоидной ткани, костного мозга и эпителия кишечных крипт. Наиболее часто болезнь наблюдают у щенков, полученных от невакцинированных сук [3, 4].

Коронавирусный энтерит – высококонтагиозная вирусная болезнь собак, характеризующаяся геморрагическим воспалением желудочно-кишечного тракта, обезвоживанием и интоксикацией. Болезнь сопровождается рвотой, длительным поносом, анорексией, резким обезвоживанием организма и сердечно-сосудистой недостаточностью. Каловые массы сначала кашицеобразные слизистые, затем водянистые с примесью крови и резким зловонным запахом [8].

**Материал и методы исследований.** Исследования проводились в условиях кинологического центра пограничной службы РБ, кафедры болезней мелких животных и птиц, кафедры патанатомии и кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Объектом служили больные щенки, тупы павших щенков, а также клинический (кровь, фекалии и рвотные массы) и патологоанатомический материал. Для изучения эпизоотической ситуации проводили анализ документов ветеринарной отчетности. Для комплексной постановки диагноза использовали следующие методы: клинический (ежедневный осмотр, пальпация, термометрия); патологоанатомический (осмотр трупа, описание патизменений органов по системам, гистоисследования