

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ИЗ НЕПИЩЕВОГО СЫРЬЯ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ САЛЬМОНЕЛЛ

Медведев А.П., Кошнерова Л.А., Билецкий О.Р., Грибанова М.В.

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

Из мяса выбракованных овец и волов в производственных условиях были получены гидролизаты, на основе которых были приготовлены питательные среды, пригодные для культивирования вакцинных штаммов сальмонелл.

From the meat reject as defective of sheep and ox in produces conditions was received hydrolizates, on bases which was prepared the nutrient environment for cultivation the vaccines stains of salmonellas.

Введение. Сальмонеллез – это инфекционная болезнь многих видов сельскохозяйственных и диких животных, вызываемая бактериями из рода *Salmonella*, семейства *Enterobacteriaceae*, характеризующаяся разнообразными клиническими проявлениями — от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм.

Среди инфекционных болезней животных, регистрируемых в Республике Беларусь, сальмонеллез занимает второе место после эшерихиоза. Чаще всего болеют молодые животные, в возрасте от 10 суток до 4 месяцев. Особенно восприимчивы к сальмонеллезу поросята, телята, молодняк птиц. Взрослые животные могут быть бактерионосителями, и в более редких случаях болезнь у них проявляется клинически.

Специфическую активную профилактику сальмонеллеза проводят живыми и инаktivированными вакцинами.

В Республике Беларусь УП «Витебская биофабрика» поставяет для животноводства страны следующие инаktivированные препараты: вакцину против сальмонеллеза телят, вакцину формолквасцовую концентрированную против сальмонеллеза поросят и вакцину ассоциированную поливалентную против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней.

Вакцина против сальмонеллеза поросят представляет собой смесь инаktivированных вакцинных штаммов *S. cholerae suis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373, выращенных на жидкой питательной среде.

В состав вакцины формолквасцовой концентрированной против сальмонеллеза телят входят культуры: *S. typhimurium*, *S. dublin*, выращенные на мясо-пептонном бульоне и инаktivированные формалином.

Вакцина ассоциированная поливалентная против сальмонеллеза, пастереллеза и стрептококкоза свиней включает бактерии: *S. cholerae suis* 370, *S. typhimurium* 371, *Pasteurella multocida* (14, 655, 656, 877), *Streptococcus fecalis* (13, 345, «Соколово», «Константиновский»), культивированные на жидкой питательной среде и инаktivированные формалином.

Для культивирования разных видов бактерий предложены многочисленные питательные среды. Среда используют с целью изоляции патогенов из патологического материала выделения чистой культуры, изучения биохимических свойств микробов, характера их роста, санитарно-бактериологического исследования воды, воздуха, почвы, кормов, пищевых продуктов, поддержания ценных музейных и производственных штаммов.

Промышленное производство вышеуказанных вакцин, а также других ветеринарных биологических препаратов, диктует необходимость применения питательных сред, особенно жидких, в больших объемах.

Витебская биофабрика готовит среды из говяжьего мяса II категории, пригодного в пищу людям, что является нецелесообразным и экономически не выгодным. Поэтому мы решили приготовить питательные среды для культивирования вакцинных штаммов сальмонелл из непищевого сырья животного происхождения.

В доступной нам литературе имеются сообщения об успешном получении питательных сред из непищевого сырья и применении их для культивирования многих видов микроорганизмов (рожистая палочка, сальмонеллы, эшерихии, стафилококки и др.).

Многие исследователи получали питательные среды для выращивания микробов из гидролизатов жмыха мышечной ткани (отходов производства медицинского препарата АТФ), жмыха слизистой оболочки желудка и кишечника (отходов производства пищевого пепсина), белков крови крупного рогатого скота и других животных, отходов сыровоточного производства (серопротеин, альбумин, эритроциты, фибрин), белков сыровотки молока, некондиционных перепелиных яиц, сыровотки крови птиц, биомассы микроорганизмов, лактопептона, кормовых дрожжей, сгустков крови животных, отходов мясной промышленности, кожевенного производства, отходов приготовления вирусных вакцин и диагностикумов (куриные эмбрионы), кишечника крупного рогатого скота и свиней и т.д. [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10]

Витебская биофабрика содержит стадо овец-доноров крови. Сыровотку крови используют для производства вакцины против лептоспироза животных.

По истечению срока эксплуатации и по другим причинам (тимпания, сердечная недостаточность, травмы и т.д.) овец выбраковывают и утилизируют.

Сыровоточный цех готовит гипериммунные сыровотки против сальмонеллеза, эшерихиоза, рожи и пастерел. В качестве продуцентов этих препаратов используют взрослых волов массой не менее 400 кг, которых так же, как и овец по окончании эксплуатации (срок 5 лет) и в связи с различными заболеваниями неинфекционного характера (перелом конечностей, аллергический шок, пневмония и др.) выбраковывают и утилизируют.

Поэтому целью работы явилось получение из непищевого сырья выбракованных волов и овец гидролизатов и приготовление на их основе питательных сред для культивирования штаммов *S. cholerae suis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373.

Материалы и методы. Мясо животных отделяли от костей, фасций, сухожилий и пропускали через мясорубку. Фарш помещали в реактор с механической мешалкой и терморегулятором. На 1 кг фарша добавля-

ли 1,5 л водопроводной воды, подщелачивали 10%-ным раствором едкого натрия до pH 7,8 – 8,0 и тщательно перемешивали. На 1 л смеси вносили 150-200 г очищенной от оболочек и измельченной на мясорубке поджелудочной железы крупного рогатого скота или 20-30 г панкреатина.

Гидролиз проводили в течение 5-6 суток при температуре 42-43 °С. Первые 6 часов смесь перемешивали каждый час, а затем 3-4 раза в сутки. Ежедневно определяли pH и в случае снижения величины показателя смесь подщелачивали до pH 7,8-8,0 10%-ным раствором едкого натрия. О готовности перевара судили по снижению процентного содержания триптофана.

Нами были приготовлены образцы гидролизатов с применением поджелудочной железы и панкреатина. Использование фарша поджелудочной железы позволило получить более высокую степень расщепления белков мяса, чем при применении панкреатина.

В качестве контроля служили гидролизаты, приготовленные из говяжьего мяса II категории.

Биохимический состав гидролизатов оценивали по содержанию общего и аминного азота.

Полученные из мяса волов и овец гидролизаты по биохимическим показателям были практически идентичными контрольным и содержали общего азота в пределах 800-1200 мг.%, аминного азота 700-900 мг.%, триптофана 150-200 мг.%.

Для приготовления бульона Хоттингера использовали только прозрачную соломенно-желтого цвета надосадочную жидкость основного перевара, которую разводили дистиллированной водой не более чем в 2-3 раза до содержания в бульоне 250-300 мг.% аминного азота. Среду подогревали до 40-42 °С, добавляли 0,3-0,5 % пептона, 0,5% натрия хлорида, 0,3% двухосновного фосфорнокислого натрия и 10% воды на выкипание, а затем кипятили в течение 30 минут. Во время кипячения устанавливали pH 7,6-7,8 путем добавления 10% раствора едкого натрия, после чего вновь кипятили в течение часа. Среду отстаивали в варочном котле 1-1,5 часа и фильтровали до полной прозрачности через плотный ватно-марлевый фильтр или фильтр-пластины марки «Ф». После фильтрации среду перекачивали в заранее приготовленный стерильный реактор, который заполняли на 1/3 его объема, стерилизовали при температуре 118-120 °С в течение 45-50 минут.

Готовая питательная среда имела следующие показатели: pH 7,4-7,6, аминного азота - 150-200 мг.%, триптофана - 50-100мг.%.

Прежде, чем культивировать производственные вакцинные штаммы сальмонелл в приготовленных питательных средах, мы определяли их пригодность путем посева и выращивания в этих средах тест-штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, «Лоссманов», *Escherichia coli* 675, *Corinebacterium diptheroides* 1911, *Streptococcus faecalis* 6783.

О пригодности питательных сред судили по следующим критериям:

- концентрации бактерий, выращенных в приготовленных питательных средах;
- характеру роста и степени диссоциации бактерий на плотной питательной среде, приготовленной из жидких путем добавления 1,5% агар-агара;
- тинкториально-морфологическим свойствам выращенных тест-микроорганизмов;
- степени диссоциации сальмонелл в процессе семикратного пассирования через питательные среды.

Результаты исследований. В результате проделанной работы было установлено следующее.

Питательные среды, полученные из непищевого сырья, обеспечивали рост тест-штаммов бактерий на уровне роста в контрольной среде из говяжьего мяса 2 категории (бульон Хоттингера).

Концентрация тест-штаммов микроорганизмов, выращенных в жидких средах, представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Концентрация бактерий, выращенных на опытных средах

Среды	Наименование тест-штаммов микроорганизмов			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Corinebacterium diptheroides</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
Мясопептонный бульон из мяса овец	0,32	0,46	0,48	0,28
Мясопептонный бульон из мяса волов	0,30	0,47	0,46	0,27
Бульон Хоттингера (контрольная среда)	0,34	0,50	0,54	0,30

Рост тест-штаммов на плотных питательных средах был весьма характерным для каждого вида используемых бактерий. На всех используемых плотных средах в первых пассажах наблюдали диссоциацию микроорганизмов O, R, S - формы колоний. В процессе семикратного пассирования тест-штаммов диссоциация их уменьшилась, т.е. отмечалась постепенная адаптация микробов к питательным средам, приготовленным на основе гидролизатов из непищевого сырья.

При росте на этих средах тестовые культуры бактерий сохраняли свои типичные тинкториальные и морфологические свойства.

Полученные данные относительно пригодности культивирования микроорганизмов на средах из непищевого сырья явились основанием для выращивания штаммов сальмонелл реакторным способом с целью получения вакцин против сальмонеллеза животных.

Штаммы сальмонелл с полужидкого агара засевали в 200-граммовые флаконы, содержащие 80-100 см³ жидкой питательной среды, и культивировали 8-10 часов при температуре 37-38 °С. Выращенные культуры проверяли на чистоту роста путем микроскопии мазков, окрашенных по Грамму, ферментативные свойства – посе-

вом на среды Гисса, серологические свойства - в реакции агглютинации с гомологичными агглютинирующими сыворотками.

Проверенные культуры из флаконов засеивали в 1-3 литровые бутылки, наполовину наполненные питательной средой, выращивали в течение 8-10 часов при температуре 37-38 °С, проверяли на чистоту роста и каждый штамм (*S. cholerae suis* 370, *S. typhimurium* 371, *S. dublin* 373) засеивали в отдельный реактор. Рост бактерий в реакторе вели при непрерывной аэрации и перемешивании среды механической мешалкой в течение 10-12 часов при температуре 37-38 °С. В процессе роста через каждые два часа брали пробы, определяли концентрацию микробных тел, чистоту культуры и pH, корректируя этот показатель 10%-ным раствором едкого натрия в пределах 7,6-7,8.

Концентрация сальмонелл, выращенных на опытных питательных средах, была на 1-2 млрд. ниже, чем в контрольной среде, и составила для *S. cholerae suis* 370 - 21 млрд., *S. typhimurium* 371 - 23 млрд., *S. dublin* - 25 млрд. микробных тел в 1 см³. Такое накопление бактериальной массы отвечает требованиям нормативно-технической документации по изготовлению и контроль против сальмонеллеза вакцин, выпускаемых УП «Витебская биофабрика».

Выращенные культуры разводили физиологическим раствором до концентрации 4 млрд. микробных клеток в 1 см³, добавляли формалин, периодически перемешивая. Для инактивации культур использовали формалин с содержанием не менее 36 % формальдегида.

Из инаktivированных культур были приготовлены опытные серии вакцин против сальмонеллеза поросят и вакцины формолквасцово-концентрированной против сальмонеллеза телят.

Приготовленные вакцины были подвергнуты контролю на стерильность, безвредность и активность в соответствии с требованиями технических условий на эти биопрепараты.

В результате проведенного контроля опытные вакцины были признаны стерильными, безвредными и активными.

Заключение. Экспериментальная работа позволяет заключить, что для получения белковых гидролизатов и приготовления на их основе питательных сред для культивирования сальмонелл можно использовать непищевое сырьё – мясо выбракованных овец-доноров крови и волов-продуцентов гипериммунных сывороток крови.

Литература. 1. Злобина, М.З. Использование некондиционных перепелиных яиц для изготовления гидролизатов / М.З. Злобина, Н.А. Ашикбаева, И.М. Смирнова // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1987. – С. 53-56. 2. Колабская, Л.С. Усовершенствование технологии изготовления белковых препаратов сыворотки крови птиц / Л.С. Колабская [и др.] // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1987. – С. 56-58. 3. Простяков, А.П. Физико-химические свойства сухих гидролизатов белков сыворотки крови / А.П. Простяков, С.И. Цыганкова, Л.И. Трусова // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 48-51. 4. Телишевская, Л.Я. Использование белковых отходов производства АТФ для получения гидролизатов / Л.Я. Телишевская [и др.] // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1984. – С. 15-19. 5. Телишевская, Л.Я. Получение гидролизатов из отходов производства пищевого пепсина / Л.Я. Телишевская [и др.] // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 88-90. 6. Цыганкова, С.И. Использование отходов глобулинового производства для приготовления гидролизатов / С.И. Цыганкова [и др.] // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 62-66. 7. Цыганкова, С.И. Получение альбумина и серопротеина при безотходной переработке сыворотки крови / С.И. Цыганкова [и др.] // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 58-62. 8. Цыганкова, С.И. Усовершенствованные технологии изготовления гидролизатов, полученных на основе ветеринарных биологических препаратов / С.И. Цыганкова, В.И. Космына, Г.Г. Гурбенко // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1987. – С. 113-114. 9. Чудинова, А.Д. Биохимические свойства гидролизатов ферментолизата биомассы микроорганизмов / А.Д. Чудинова // Сборник научных трудов ВГНКИ. – Москва, 1985. – С. 26-58.

УДК 619:615.373

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНТИГЕНА ИЗ ВАКЦИН ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ДЛЯ ГИПЕРИМУНИЗАЦИИ ПРОДУЦЕНТОВ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ

Медведев А.П., Кошнерова Л.А.

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

В работе использованы вакцины против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота. Из них был получен сальмонеллезно-пастереллезный антиген, пригодный для гипериммунизации волов с целью получения от них лечебно-профилактической сыворотки против сальмонеллеза и пастереллеза крупного рогатого скота.

At the scientific work were used vaccines against salmonellosis and pasteuriosis of cattle. From his was received salmonellas and pasteurellas antigen, suitable for hyperimmunization of ox for the purpose to receive from they treatment and preventive serum against salmonellosis and pasteuriosis of cattle.

Введение. Повышение рентабельности животноводства Республики Беларусь в определенной мере зависит от благополучия хозяйств по инфекционным болезням, которое в значительной степени обеспечивается применением средств специфической профилактики, диагностики и лечения животных.

Основным компонентом вакцин для активной профилактики инфекционной патологии животных является антиген, качество которого определяет специфичность и иммуногенность этих препаратов. Превентивная активность лечебно-профилактических сывороток связана с концентрацией в них специфических антител, уровень которых предопределяется иммуногенностью антигена, предназначенного для гипериммунизации продуцентов,