

токсина в кормах, представляет кукуруза, ввезенная на территорию Беларуси из Украины и Молдовы.

**Литература.** 1. Durate Diaz "The mykotoxin blue book" Nottingham University Press. 2. European commission.

Opinion of the scientific committee on food on fusarium toxin. Part 5: T-2 toxin and HT-2 toxin. SCF/CS/CNTM/MYC/25 Rev 6 Final. 3. European commission. Opinion on fusarium toxin. Part 2: DON. SCF/CS/CNTM/MYC/19 Final. 4. European commission. Opinion of the scientific committee of animal nutrition on undesirable substances in feed. Adopted on 23.02.2003.

УДК 619:576.8.078:616-025

**ТЕМПЕРАТУРНЫЕ РЕЖИМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФОРМ МИКОБАКТЕРИЙ**

**Красникова Е.Л.**

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского НАН Беларуси»

Проводимые нами исследования доказывают не только полиморфизм микобактерий, но и непосредственное участие трансформированных и измененных форм в развитии инфекционного процесса (2, 3, 4). Данные исследования стали возможны благодаря разработке украинскими учеными качественно новой среды ВКГ со стимулятором роста для культивирования микобактерий, позволяющей в короткие сроки и с минимальными затратами выделить ряд измененных и трансформированных форм микобактерий (1). Для определения вида микроорганизмов необходимо основываться на знании как можно большего количества их свойств (5).

Известно, что оптимальная температура культивирования микобактерий 37°C, однако многие виды микобактерий растут и при других температурных режимах, что позволяет отличать возбудителя туберкулеза от атипичных микобактерий (5).

Цель нашего исследования – изучить рост различных видов микобактерий на среде ВКГ при разных температурных режимах и возможность дифференциации культур по этому показателю.

**Материалы и методы.** В работе использовали эталонные штаммы *M.bovis* 8, *M.terrae* 17522 ATCC, *M.fortuitum* 342, *M. phlei*, *M. avium*. Культуры выращивали на среде ВКГ (с предварительным культивированием в стимуляторе роста в термостате при 37°C в течение 48 часов) и параллельно на среде Гельберга (контроль). Для посева культур использовали по 5 пробирок каждой среды. Культивирование проводили при 20-25°C, 37°C, 45°C. На среде ВКГ рост культур учитывали на 5-7-е и 10-15-е сутки, на среде Гельберга на 15-30-45-е сутки.

Микобактериальную природу культур подтверждали микроскопически, в ИФА и РА.

**Результаты исследований.** На среде Гельберга получены классические результаты:

- 37°C - температура оптимальная для роста всех исследуемых штаммов.

- 20-25°C - характерный рост дали *M.terrae* 17522 ATCC, *M.fortuitum* 342, *M. phlei*, *M. avium*.

- 45°C - характерный рост дала лишь культура *M. phlei*.

Рост на среде ВКГ при температуре 37°C

был получен у всех исследуемых штаммов на 5-7-е сутки. У *M.bovis* 8, *M.terrae* 17522 ATCC, *M.fortuitum* 342, *M. phlei* преимущественно в виде отдельных мелких колоний белого цвета, у *M. avium*, *M.bovis* 8 - восковидного белого налета. При микроскопии мазков из посевов, обнаруживали синие полиморфные палочки и кокки, структуры в виде шаров и нитей, овоиды с лучами, мицелиевидные скопления, нуклеоидная масса.

При 20-25°C рост наблюдали на 5-15-е сутки. Рост в виде отдельных белых колоний наблюдался у *M.fortuitum* 342, отдельных мелких колоний с концентрическими кругами у *M. avium* и сплошных слегка слизистых колоний у *M. phlei*. В мазках обнаруживали большое количество делящихся синих палочек, биполярно окрашенных овоидов, кокки, а также красные палочки.

При 45°C рост наблюдали на 10-15-е в виде белых мелких колоний у *M.fortuitum* 342. В мазках - синие кокки и палочки, а также красные палочки.

Принадлежность всех исследуемых культур к виду микобактерий была подтверждена ИФА и в РА.

**Выводы.**

1. Оптимальные температуры культивирования микобактерий на среде ВКГ и на общепринятых питательных средах для микобактерий совпадают.

2. У *M.fortuitum* и у *M. phlei* рост при температурах 20-25°C и 45°C при выращивании на среде ВКГ отличается от роста при выращивании на плотных питательных средах.

3. Наличие в мазках из культур, выросших на среде ВКГ при 20-25°C и при 45°C нехарактерно большого количества спиртокислотоустойчивых палочек, свидетельствует об ухудшении условий культивирования и снижению возможности быстрого деления клеток.

4. Дифференциация культур, выросших на среде ВКГ при культивировании при разных температурах, без проведения дополнительных исследований не дает четких результатов.

**Заключение.** Изменение температурного режима в ту или другую сторону от оптимального, приводит к угнетению размножения клеток, увеличению периода роста культур на среде ВКГ и появлению большего числа спиртокислотоустойчивых

палочек, характерных для классической формы возбудителя туберкулеза. Дифференциация культур с применением различных температурных режимов на среде ВКГ без дополнительных исследований не дает четких результатов.

**Литературы.** 1. Власенко В.В. Туберкулез в фокусе проблем современности. Винница: Наука, 1998.- 350с. 2. Лемиш А.П., Красникова Е.Л., Полоз А.И. Биохимические свойства культур микобактерий выращенных на среде ВКГ // Сельское хозяйство проблемы и перспективы

– сб. науч. трудов, - Гродно 2005. – том 4, часть 2 – с.253-257. 3. Лысенко А.П., Красникова Е.Л., Полоз А.И., Агеева Т.Н. Морфология и культуральные свойства микобактерий, выращенных на среде ВКГ // Ветеринарная наука производству - Науч. труды, – Минск 2002. - выпуск 36 – с. 69-75. 4. Лысенко А.П., Полоз А.И., Агеева Т.Н. Красникова Е.Л., Стимулятор роста и среда ВКГ для ускоренного выделения микобактерий, культуральные, патогенные и антигенные свойства изолируемых культур // Ветеринарная медицина Беларуси – Минск 2003 -№1 – с.10-14. 5. Тузова Р.В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы // Мн.: - Ураджай. – 1983. –262с.

УДК 619:616.98:579.882.11

**ОЦЕНКА ИММУНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ХЛАМИДИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

**Красочко П.А., Губаревич А.А.**

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси»

Среди инфекционных заболеваний крупного рогатого скота хламидиоз занимает одно из ведущих мест. Актуальность исследований по изучению проблемы хламидиоза доказано во многих странах мира как по данным сероэпизоотического мониторинга, так и по результатам выделения возбудителя при различных патологических процессах у разных млечнокопитающих. Вместе с тем, многие вопросы этой проблемы требуют дополнительного изучения.

В этиологической структуре пневмоэнтеритов телят и заболеваний репродуктивных органов у коров заметную роль играют хламидии. Проведенными нами исследованиями установлено, что хламидии в 30-80% случаев являются одной из основных причин возникновения этих заболеваний.

Одним из основных методов борьбы с хламидиозом крупного рогатого скота является специфическая профилактика. С этой целью апробирован ряд живых и инактивированных вакцин. Однако в Республике Беларусь вакцина против хламидиоза в настоящее время не выпускается, а применяемые зарубежные вакцины обладают невысокой профилактической эффективностью, высокореактогенны и имеют высокую стоимость.

В этой связи проведены исследования по разработке вакцины против хламидиоза крупного рогатого скота, которые позволили создать высокоэффективный биологический препарат на основе отечественных сред и реагентов с невысокой стоимостью. При конструировании вакцины в качестве инактивантов и адъювантов использованы иммуностимулирующие препараты и сорбенты нового поколения.

Одними из основных показателей, характеризующих качество биологического препарата, являются иммуногенность, стерильность и безвредность.

Обычно для изучения иммуногенности используют тот вид животных, для которого разрабатывается вакцина. Но использование крупного рогатого скота для контроля иммуногенности вакцины

существенно повышает ее стоимость. Поэтому, для удешевления вакцины, при оценке иммуногенности необходимо было использовать другие, более дешевые виды животных.

Целью настоящих исследований явилось изучение стерильности, безвредности и иммуногенной активности вакцины на лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Для изготовления вакцины против хламидиоза крупного рогатого скота использовали аттенуированный штамм хламидий КМИЭВ-31. Хламидии имели инфекционный титр 6,0 lg ТЦД 50/мл. Накопление хламидий проводили на культуре клеток Мак-Кой или Vero. В качестве инактиванта использовали теотропин в 0,2-0,3% концентрации, а адъюванта – 2% суспензия активированной целлюлозы с 4-5% СООН-групп.

Для изучения режимов определения иммуногенности культуральной инактивированной вакцины против хламидиоза крупного рогатого скота исследования были проведены на 16 кроликах, которых разделили на 4 группы (3 опытные и 1 контрольная). Кроликам первой опытной группы вводили одну иммунизирующую дозу вакцины (5 мл), кроликам второй опытной группы - 2,0 дозы (10,0 мл), кроликам третьей опытной группы по 3,0 дозы (15,0 мл) вакцины. Вакцина вводилась однократно. Через 21 день после введения вакцины была взята кровь для определения титра антител. Наличие антител в хламидиям было определено в РДСК.

Стерильность инактивированной вакцины против хламидиоза изучали путем посева опытного образца вакцины на питательные среды – мясо-пептонный агар (МПА), мясо-пептонный бульон (МПБ), агар Сабуру. Для этого в каждую питательную среду вносили по 0,2; 0,5 и 1,0 мл вакцины. Пробирки с МПА и МПБ помещали в термостат при +37°С, а агар Сабуру – при + 20-22°С на 7 суток. Отсутствие роста бактериальной флоры и грибов в течение 7 дней явилось показателем стерильности биопрепарата.