

зат необходимо очищать и фракционировать с помощью мембран с селективностью 5 и 100КД.

**Литератур:** 1. Иммуностимуляторы в системе профилактики болезней свиней/В.П.Урбан, А.А.Буянов, А.Н.Гречухин и др. //Ветеринария. – 1992. - №12. – С.21-

23. 2. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка. – Мн.: Ураджай, 1993. – 288с. 3. Карпуть И.М. и др. Препарат сальмопул. ТУ РБ 300002681.019-2003 - Витебск, 2003г, с.16. 4. Прудников С.И. Иммуностимуляторы при профилактике болезни поросят//Ветеринария. – 1996. - №11. – С.13-17.

УДК 619;579.841.94

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БОРДЕТЕЛЛ

Вербицкий А.А., Стомма С.С.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Перевод свиноводства на промышленную основу выдвинул новые проблемы, связанные с сохранением животных. Качественно новые методы содержания и эксплуатации, которые характеризуются длительным пребыванием животных в закрытых помещениях, высокой концентрацией их на ограниченных производственных площадях, воздействием на организм многочисленных технологических стресс-факторов, обуславливают повышенную чувствительность свиней к неблагоприятным факторам, способствуют интенсивному обмену микрофлорой, пассированию ее через восприимчивых животных и усилению вирулентных свойств.

Одновременно многие свиноводческие хозяйства республики испытывают ряд экономических проблем, что связано с уменьшением уровня и качества кормления животных. При этом снижается иммунный статус организма животных и усложняется эпизоотическая ситуация. Все это явилось одной из причин возникновения в свиноводческих хозяйствах ранее не регистрируемых заболеваний, характеризующихся широким охватом восприимчивых животных за короткий промежуток времени.

Особенно большую опасность представляют респираторные болезни, так как при определенных условиях появляется возможность передачи возбудителей как воздушно-капельным путем, так и при прямом контакте больных и здоровых животных.

Неблагополучные по респираторным болезням свиноводческие хозяйства имеют низкую рентабельность, что отражается на этой отрасли животноводства в целом. Важную проблему составляют болезни, обусловленные условно-патогенными микроорганизмами, которые широко распространены в животном мире.

Одной из причин инфекционной патологии органов дыхания является *Bordetella bronchiseptica*. Заболевание, вызванное этим видом микроорганизма (бордетеллез, бронхосептикоз, бордетеллезная инфекция), зарегистрировано и описано в Германии, Великобритании, Польше, Норвегии, Франции, США, России, Украине, Республике Беларусь и других странах. Вместе с тем многие вопросы, касающиеся возбудителя и самой болезни остаются неизученными.

Бордетеллез (бронхосептикоз) свиней – *Bordetellosis suum* – инфекционная болезнь, характеризующаяся развитием катарально-гноной пневмонии, сопровождающейся сухим кашлем, отставани-

ем в росте и развитии.

Возбудитель болезни – *Bordetella bronchiseptica*, согласно "Определителю бактерий Берджи", относится к царству Prokaryotae, отделу Gracilicutes, секции 4 – грамтрицательные аэробные/микроаэрофильные палочки и кокки.

Экономический ущерб от бордетеллезной инфекции значителен и складывается из потери племенных качеств животных, снижения прироста массы в результате плохого роста и развития переболевших поросят, гибели животных при осложненных формах болезни, затрат на проведение оздоровительных мероприятий.

Имеются сообщения, что бордетеллезная пневмония приводит к замедлению роста тела на 2,6%, снижению усвояемости кормов на 12%, в результате для достижения живой массы до 100 кг возникает необходимость удлинять сроки откорма на один месяц.

Исходя из этого, целью нашей работы явилось изучить биологические свойства выделенных нами бордетелл. Результаты этих исследований послужат для оценки роли бордетелл в заболевании свиней пневмониями и могут лечь в основу разработки методических рекомендаций по диагностике, профилактике и мерам борьбы с бордетеллезом свиней.

### Материалы и методы.

Изоляцию *Bordetella bronchiseptica* проводили общепринятыми методами. Материалом для исследования служили участки пораженных легких на границе со здоровой тканью, бронхиальные лимфатические узлы, бронхиальная слизь, измененные участки трахеи, слизистой оболочки носа.

Посев производили на обогащенные питательные среды: мясо – пептонный бульон и мясо – пептонный агар с добавлением 5% сыворотки крови лошади, а также на казеиново – угольный агар. Кроме того, материал высевали и на простые МПБ и МПА. Посевы инкубировали на протяжении 24 – 48 часов при температуре 37°C.

Для получения чистой культуры бордетелл использовали метод Дригальского (метод пластинчатого посева).

Одновременно первично исследуемый материал изучали путем микроскопии мазков - отпечатков, окрашенных по Граму, для определения наличия и изучения морфологических форм микроба.

Тинкториальные свойства *B. bronchiseptica* изу-

чали в мазках, окрашенных по Граму. Подвижность определяли методом "висячая капля" и методом посева в полужидкий агар.

Культуральные свойства изучали по общепринятой методике на средах: МПБ с сывороткой крови лошади, казеиново – угольном агаре, агаре Мак – Конки, среде Гартоха. При этом обращали внимание на величину, форму, цвет, консистенцию колоний на плотных питательных средах, а также интенсивность, характер роста, образование осадка на жидких питательных средах.

Ферментативную активность выделенных штаммов *Bordetella bronchiseptica* определяли путем посева на стандартные среды с углеводами и многоатомными спиртами (сахароза, глюкоза, мальтоза, маннит, дульцит, глицерин). Результаты учитывали по изменению окраски через двое суток. Неспособность бактерий расщеплять белки до сероводорода определяли на среде Клиглера, до индола при помощи реакции Легалля-Вейля. К 2-дневной бульонной культуре добавляли 5-6 капель 5% раствора нитропрусида натрия, 5-6 капель 40% раствора натрия гидроокиси и 6-7 капель концентрированной 80% уксусной кислоты. Встряхивание проводили после каждого добавления компонентов. Учет вели по степени изменения окрашивания бульона. В положительных случаях он окрашивается в синезеленый цвет.

Способность исследуемых культур редуцировать нитраты определяли с помощью крахмально – йодистого раствора. К МПБ прибавляли 0,2% азотно – кислого натрия. На третьи сутки после посева прибавляли 1 мл крахмально – йодистого раствора. Окрашивание среды в синий цвет свидетельствовало о редукации нитратов.

Образование аммиака определяли с помощью реактива Несслера. В бульонную культуру добавляли каплю реактива. Она при этом приобретала желто – коричневатый цвет.

Наличие фермента уреазы проверяли методом Заксе. К средам с реактивом Заксе добавляли по 1-2 капли исследованной культуры и культивировали в течение суток. Учет результатов проводили через 30 минут и 24 часа.

Каталазную активность проводили путем нанесения капли суточной бульонной культуры на предметное стекло, к которой затем добавляли каплю 1% -ного раствора перекиси водорода. О наличии фермента уреазы судили по выделению или отсутствию пузырьков отщепленного кислорода. Для контроля использовали каплю чистого мясоептонного бульона с перекисью водорода.

Для определения способности выделенных культур усваивать цитрато-аммонийные соли делали посевы на среду Симмонса.

Гемолитические свойства изучали по наличию зон гемолиза на кровяном агаре. На указанную питательную среду высевали двухсуточные культуры бордетелл и инкубировали при температуре 37°C в течение двух суток, а затем оставляли при комнатной температуре на 24 часа. Обычно гемолиз проявляется через 48 часов, но четкие результаты выявлялись после дополнительного 24-часового выдерживания при комнатной температуре.

Патогенные свойства выделенных бордетелл изучали на белых мышках массой 18-20 граммов.

Заражали опытных животных 24-часовой агаровой культурой бордетелл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида. Белым мышам вводили ее внутривентриально в дозе 100 млн. – 1 млрд. микробных клеток

#### Результаты исследований

В результате бактериологического исследования 75 проб патологического материала культура *Bordetella bronchiseptica* выделена в 24 случаях, что составило в среднем 32 %.

Все выделенные штаммы бордетелл в МПБ в первые сутки давали легкое помутнение среды, при более длительном культивировании (4-5 суток) образовывали пристеночное кольцо, а на дне пробирки – осадок, поднимающийся при энергичном встряхивании в виде "косички".

На МПА через 24 часа отмечали росинчатые полупрозрачные, блестящие колонии величиной с булавочную головку. Через 48-72 часа эти колонии приобретали серо-белый цвет.

На поверхности казеиново-угольного агара через 24 часа образовывались полупрозрачные, росинчатые, блестящие, выпуклые колонии. Они имели масляную консистенцию, легко снимающуюся бактериологической петлей. Через 48-72 часа колонии приобретали серо-белый цвет.

На среде Гартоха появлялись беловатые каплевидные колонии. На среде Мак-Конки – розовые со светлым центром, куполообразные, мелкие, полупрозрачные колонии.

На кровяном агаре зона гемолиза проявлялась через 48 часов, но четкие результаты были выявлены лишь после дополнительного 24-часового выдерживания при комнатной температуре.

В мазках-отпечатках из органов, окрашенных по Граму, выявляли грамотрицательные короткие палочковидные бактерии с закругленными концами, капсулоподобной структуры, теряющейся при пассивировании на питательные среды.

В мазках, приготовленных из бульонных и агаровых культур, выделенные штаммы имели вид грамотрицательных палочек с закругленными концами, размером 0,4-0,6 x 1,5-2,5 мкм, или грамотрицательных коккобактерий, расположенных одиночно или парно, не образующих спор, относящиеся к подвижным микроорганизмам.

Биохимические свойства определяли на средах с глюкозой, сахарозой, мальтозой, маннитом, дульцитом, глицерином. При этом отмечали полное отсутствие активности к сахарам и многоатомным спиртам, что характерно для *Bordetella bronchiseptica*.

При посеве выделенной культуры на среду Клиглера образование сероводорода не происходило.

Уреазную активность изучали методом Заксе. Через 30 минут культивирования среды с реактивом Заксе приобретали малиновый цвет. При более длительном культивировании (24 часа) цвет сред становился розовым. Это свидетельствует, что исследуемые культуры обладали уреазной активностью.

При определении фермента каталазы в капле суточной бульонной культуры с перекисью водорода

## ЭПИЗООТОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ

да отмечали бурное выделение пузырьков отщепленного кислорода. В контроле (мясопептонный бульон + перекись водорода) образование пузырьков кислорода не отмечали.

Для определения способности исследуемых культур усваивать цитрато-аммонийные соли использовали среду Симмонса. На протяжении 24 часов культивирования при 37°C бордетеллы окраску среды в процессе роста на синий цвет.

При определении индола в реакции Легалля-Вейля отмечали, что изменение окраски бульонной культуры в сине-зеленый цвет не произошло, что свидетельствует о неспособности испытуемых бактерий расщеплять белки до индола.

Для определения патогенности выделенных культур бордетелл использовали белых мышей массой 18-20 граммов обоего пола. Заражали опытных животных 24 – часовой агаровой культурой бордетелл на стерильном изотоническом растворе натрия хлорида с концентрацией микробной взвеси 1 млрд. микробных клеток в 1 мл по стандарту мутности, которую вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мл, что составляло 100 млн.; 200 млн.; 400 млн.; 600 млн.; 800 млн.; 1 млрд. микробных тел, используя на каждую дозу по 5 животных.

Результаты опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Вирулентность бордетелл для белых мышей

Вид животных	Доза (в м. т.)	Количество животных на дозу	Количество животных	
			пало	выжило
Белые мыши	100 млн.	4	0	4
– “ –	200 млн.	4	1	3
– “ –	400 млн.	4	2	2
– “ –	600 млн.	4	3	1
– “ –	800 млн.	4	4	0
– “ –	1 млрд.	4	4	0

Данные таблицы свидетельствуют, что доза бордетелл в 800 млн. микробных тел и выше вызвала при внутрибрюшинном введении гибель 100 % мышей, использованных в опыте. Доза 100 млн. микробных клеток оказалась для них апатогенной, а дозы 200 и 600 микробных тел вызвали соответственно гибель 1-й и 3-х белых мышей. Величина 50% летальной дозы (LD<sub>50</sub>) для белых мышей оказалась равной 400 млн. микробных тел.

На вскрытии у павших мышей отмечались атрофия селезенки и зернистая дистрофия печени. Для проведения бактериологического исследования делали посевы из внутренних органов. Культуру бордетелл реизолировали от 15 (83,3%) павших животных.

### Заключение

Выделенные нами штаммы микроорганизмов на питательных средах давали характерный рост для бордетелл. Изучение биохимических свойств показало, что они не обладают ферментативной активностью, не способны расщеплять белки до индола и сероводорода, образуют уреазу и оксидазу, что согласуется с литературными данными.

Таким образом, можно с уверенностью сказать, что выделенные нами микроорганизмы принадлежат к виду *Bordetella bronchiseptica*.

Доза бордетелл в 800 млн. микробных тел и выше вызывает при внутрибрюшинном введении гибель 100% белых мышей.

**Литература:** 1. Дунаев Г.В. Методы диагностики и меры борьбы с массовыми респираторными болезнями свиней // Сборник трудов Харьковского СХИ. – 1984. – т.305.-С.26-31. 2. Кожевников С.В. Патологоанатомические и бактериологические исследования при бордетеллезной пневмонии свиней. - М.:ВГНКИ ветпрепаратов. Рукопись деп. ВНИИТЭИ агропром, 1990. – 7с. 3. Stehmann R., Mehlhorn G. *Bordetella bronchiseptica* in piggery air and the potential risk to animal attendants // Bericht des 4. Hobenheimer Seminars "Aktuelle Zoonosen", Stuttgart. September. – 1993. – Vol. 48-57. – P. 16-17. 4. Ятусевич А.И., Андросик Н.Н. Малоизученные инфекционные болезни домашних животных.- Минск, Ураджай.-2001.- 231с. 5. Vidic B., Asanin R., Bobos S. Selective media for the isolation of *Bordetella bronchiseptica* in experimentally infected pigs // Acta. Vet. – 1994. – Vol.43.-№2.-P.147-153.

УДК 619: 616. 98: 579. 834. 115 – 085. 371: 636. 4

### ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА НА ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА СВИНЕЙ

Гайсенюк С.Л.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

Производство и применение ветеринарных препаратов – важный фактор устойчивого развития животноводства, обеспечения продовольственной и

биологической безопасности государства.

В настоящее время для противозпизоотических мероприятий закупается 36 диагностикумов, 80 вак-