

## ПОДБОР КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПЕРВИЧНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ *BORDETELLA BRONCHISEPTICA*

**Васильева Юлия Борисовна**, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ВСЭ»

**Васильев Дмитрий Аркадьевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ВСЭ»

**Мастиленко Андрей Владимирович**, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ВСЭ»

**Сверкалова Дарья Геннадьевна**, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ВСЭ»

**Семанин Антон Геннадьевич**, студент факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.:8(8422)5595-47;

e-mail: dav\_ul@mail.ru

**Ключевые слова:** *Bordetella bronchiseptica*, подбор компонентов, бордетеллёз, питательные среды, детекция бордетелл, первичная индикация.

В статье приводится обзор применяемых в настоящее время питательных сред для культивирования бактерий *Bordetella bronchiseptica* и освещаются результаты собственных исследований по подбору компонентов питательных сред для первичного выделения клинических изолятов возбудителя бордетеллёза животных.

### Введение

Несмотря на то, что в настоящее время внимание зарубежных исследователей нацелено на разработку современных молекулярно-генетических, иммунологических методов детекции патогенов рода *Bordetella*, в нашей стране культуральный метод остается «золотым стандартом» лабораторной диагностики бордетеллёза. При этом метод имеет практически ретроспективный характер с получением окончательного результата минимум через неделю от начала исследований, а диагностическая эффективность анализа в клинической практике, как правило, не превышает 10,0-38,0% [1]. Длительность и низкая эффективность исследования обусловлены слабой устойчивостью бордетелл во внешней среде, медленным ростом возбудителя, несвоевременным и неполным обследованием животных с затяжным кашлем, нарушением правил забора и транспортировки материала, несовершенной рецептурой питательных сред, в частности неудовлетворительным выбором селективных компонентов, применением

антибиотиков до начала анализа, контаминацией исследуемого материала другими микроорганизмами, недостаточной кратностью обследования [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

Полностью отказываться от использования бактериологического метода нецелесообразно, так как он доступен и традиционен для большинства отечественных лабораторий и специалистов. Вследствие этого актуальна оптимизация анализа за счет сокращения времени и трудозатрат получения результата, повышения объективности идентификационных признаков, стандартизации условий и этапов выполнения методик.

Для этого необходимо провести анализ имеющихся в настоящее время питательных сред для выделения *B. bronchiseptica* и селективных компонентов, используемых для подавления сопутствующей носоглоточной микрофлоры.

В истории разработки питательных сред для идентификации бордетелл одним из ключевых моментов явилось создание в 1906 году кровяного агара Борде-Жангу (BG), обогащенного казеиновым пептоном с до-

бавлением картофеля и глицерина, являющихся источниками питания бордетелл [3].

На протяжении столетия состав среды Борде-Жангу неоднократно модифицировали, добавляя различные питательные вещества (угольные компоненты, экстракт дрожжей, ферменты, витамины, аминокислоты), селективные компоненты (метициллин, цефалексин, пенициллин, стрептомицин, нистатин, амфотерицин В, спектиномицин, циклогексимид, канамицин и другие), изменяя источник крови (баранья, кроличья, человеческая, коровья, лошадиная) или её процентное количество (10-50%) [3].

Исследования выявили, что в присутствии углекислоты, антибиотиков и человеческой крови высеваемость *B.bronchiseptica* снижается.

В мировой практике для первичного выделения бактерий *B.bronchiseptica* используют следующие агаровые среды: Amies, Smith-Baskerville (SB), MBM, Jones-Kendrick, сердечно-мозговой агар, лактозно-сахарный агар, Регана-Лоува, МакКонки, Эндо, триптон-соевый, пептонный агары, Борде-Жангу, древесно-угольный, FC, а также синтетическую среду Stainer-Scholte со стимулятором роста циклодекстрином.

Анализ литературы показал, что коммерческие среды для культивирования и выделения бордетелл, выпускаемые фирмами «Difco», «Gibco», «BBL», «Conda», «HiMedia», «Oxoid» содержат в качестве источников питания бордетелл пептоны, экстракты мяса, ферментативные гидролизаты казеина, желатина, витамины и 10-15% дефибринированной крови. Импортные среды богаты по питательным свойствам, но сложны по составу и дорогостоящи [1, 2, 3, 4, 5].

В нашей стране единственной коммерческой средой для культивирования бордетелл является казеиново-угольный агар (КУА), выпускаемый НПО «Питательные среды» (Махачкала) и ФБУН «ГНЦ ПМБ» (Оболенск) под названием бордетелагар. КУА (бордетелагар) содержит гидролизат казеина, дрожжевой экстракт, агар, калий фосфорнокислый, медь сернокислую, магний хлористый, крахмал, цистеин, уголь ак-

тивированный.

Также в отечественной микробиологической практике используется ряд сред лабораторного изготовления: картофельно-глицериновый агар (среда Борде-Жангу) и молочно-кровяной агар. Недостатками являются короткий срок хранения сред, трудоемкое и затратное непосредственное рецептурное их приготовление в условиях лабораторий, нестандартность, недостаточная селективность в отношении носоглоточной флоры животных и потребность в последующей многоэтапной идентификации возбудителя по биохимическим свойствам.

Анализируя источники литературы, необходимо отметить, что используемые в настоящее время питательные среды для выделения и культивирования бордетелл в основном ориентированы на коклюшную палочку *B.pertusis*, которая, в отличие от *B.bronchiseptica*, требовательна к условиям культивирования: наличию крови для роста, а также сорбентов (крахмал, альбумин, древесный уголь, ионообменные смолы) для нейтрализации продуктов метаболизма (ненасыщенных жирных кислот, коллоидной серы, пероксидов). Первичное выделение возбудителя на этих питательных средах не исключает дальнейшей длительной идентификации по тинкториальным и биохимическим свойствам. Коммерческие селективные добавки достаточно дорогостоящи и не всегда эффективны.

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось проведение научно обоснованного подбора компонентов для питательных сред, обеспечивающих ростовые качества бактериям *B.bronchiseptica*, имеющих в составе маркеры специфичной ферментативной активности возбудителя, а также селективные компоненты, ингибирующие рост сопутствующей носоглоточной микрофлоры и не влияющие на высеваемость бордетелл.

#### **Объекты и методы исследований**

Исследования проводили в лаборатории научно-исследовательского инновационного центра микробиологии и биотехнологии кафедры микробиологии, вирусоло-

гии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина».

Объектами исследований явились лабораторные штаммы из кафедральной музейной коллекции: *B. bronchiseptica* №1, №7, №214, №22-067, №8344; *B. parapertussis* №119; *B. pertussis* №12, № 14а, №38; *Yersinia pseudotuberculosis* №0630; *Staphylococcus aureus* №ATCC 25923; *Escherichia coli* №4, №25922 ATCC; *Proteus mirabilis* №1, №523, №491; *Salmonella typhimurium* №82; *Klebsiella pneumoniae*; *Enterococcus faecalis* №189; *Providencia rettgeri* №104а, №102д, №175; *Aeromonas hydrophila* №01, №02; *Pseudomonas putida* №12633, №901; *Enterobacter cloacae* №1487, №10005.

Оценку биологических свойств бактерий *B. bronchiseptica* проводили согласно методическим указаниям «Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептических бактерий» МУК 4.2.2317-08 [9]. При подборе питательных компонентов использовали общепринятые физико-химические и микробиологические методы в соответствии с методическими указаниями «Методы контроля бактериологических питательных сред» МУК 4.2.2316-08 [10]. Вели поиск селективных компонентов среди антибактериальных средств, ингибиторов роста бактерий, индикаторов и красителей. Определение чувствительности культур *B. bronchiseptica* к химическим средствам проводили диско-диффузионным методом и методом серийных разведений согласно методическим указаниям «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» МУК 4.2.1890-04 [11].

Для подбора питательной основы и ростовых компонентов провели анализ культивирования бактерий *B. bronchiseptica* на 17 агаровых средах. Поиск селективных компонентов и высокоспецифичных маркеров вели среди антимикробных, химических средств, индикаторов и красителей [12, 13].

Математическую обработку экспериментальных данных проводили методом расчёта эффектов влияния на количество жизнеспособных клеток для всех уровней

исследуемых факторов [14].

### Результаты исследований

Разработка состава питательных сред включала подбор основы и составляющих компонентов, обеспечивающих максимальный ростостимулирующий эффект, даже при наличии единичных клеток в пробе; дифференцирующих биохимических маркеров – элективных компонентов, позволяющих сократить общее количество идентификационных тестов; селективных компонентов, угнетающих сопутствующую носоглоточную микрофлору и не влияющих на размножение и видовые свойства *B. bronchiseptica*.

Результаты изучения некоторых биологических свойств бактерий *B. bronchiseptica* представлены в таблице 1.

Тест-штаммы показали хорошие результаты роста как на средах, специализированных для выращивания бордетелл (казеиново-угольный агар, бордетелагар, Борде-Жангу), так и на простых агарах (МПА, ГРМ) по скорости появления, размеру колоний и количеству колониеобразующих единиц. Мы отметили следующие недостатки: питательные среды бордетелагар и КУА имеют черный цвет из-за угольных компонентов, что затрудняет дифференциацию колоний по окрашиванию, прозрачности и изменению цвета среды. Среда пригодна только для первичного выделения возбудителя с последующей многоэтапной дифференциацией по биологическим свойствам. Желательно, чтобы среды были прозрачными. Это облегчает наблюдение за ростом культур и возможным загрязнением среды посторонними микроорганизмами.

Среды, содержащие кровь (Борде-Жангу, кровяной агар) имеют ограниченный срок хранения и нестандартны по составу, так как готовятся в лабораторных условиях. Необходимость в угольных адсорбентах и крови обусловлена потребностями родственной коклюшной палочки, на свойства которой ориентировались при разработке специализированных сред.

Мы установили, что тест-штаммы *B. bronchiseptica* активно культивируются на средах, обогащенных пептонами, витамина-

Таблица 1

Биологические свойства бактерий *B. bronchiseptica*

№	Тест	Результат		
Морфология и тинкториальные свойства				
1	Окраска по Грамму, по Ольту	грамотрицательные коккобациллы (0,3±0,2)*(1,0±0,5) мкм, располагающиеся одиночно и цепочками. Спор не образуют. Капсула не выявляется		
2	Морфотипы (электронная микроскопия)	1-й морфотип: овоидные палочки, без жгутиков с нежной капсулой (вирулентная фаза), 2-й морфотип: промежуточный; 3-й морфотип: перитрихально расположенные жгутики (авирулентная фаза).		
Культуральные свойства				
3	Рост на жидких питательных средах (МПБ, ТСБ) через 24-48 ч	равномерное помутнение с последующим образованием осадка и пристеночного кольца		
4	Рост на полужидких средах (0,7% МПА) через 24 ч	рост по всей поверхности		
5	Рост на агарах через 48 ч:	диаметр	морфотип	реакция среды
	Агар Симмонса	1,0±0,5	S	с зеленого на синий
	Ацетатный агар	2,0±0,5	S	с оливкового на вассильковский
	Vacto PPLO агар	2,5±0,5	S, R, SR	-
	Бордетелагар	1,5±0,5	S	-
	ГРМ – агар	1,0±0,5	S, R, SR	-
	Дифтерийная среда	3,0±0,5	S, R, SR	-
	Кровяной агар 10%	2,5±0,5	S	слабый β-гемолиз
	Казеиново-угольный агар	2,0±0,5	S	отсутствует
	Менингококкагар	3,0±0,5	S	отсутствует
	Мясо-пептонный агар	2,5±1,0	S, R, SR	отсутствует
	МПА с цетримидом	-	-	отсутствует
	Среда Пизу	2,5±0,5	S, R, SR	вокруг колоний коричневая
	Среда Сабуро	2,0±0,5	S, R, SR	с зеленого на синий, запах аммиака
	Среда для иерсиний и псевдотуберкулеза	2,0±0,5	S	отсутствует
	Стафилококк агар	-	-	отсутствует
	Триптиказо-соевый агар	2,0±0,5	S, R, SR	отсутствует
Среда Эндо	1,0±0,5	S, R	с зеленого на синий	
Борде-Жангу	2,5±0,5	S	слабый β-гемолиз	
Морфотипы, образуемые на агарах через 48 ч				
6	1-й морфотип (S)	мелкие (до 1 мм), выпуклые, круглые, с ровным краем, полупрозрачные жемчужные, грязно-белые или сероватые, влажной консистенции, легко снимающиеся с поверхности среды колонии с блестящей поверхностью, с четкой зоной гемолиза на средах с добавлением крови		
7	2-й морфотип (S, R)	мелкие, средние, крупные колонии с ровными и шероховатыми краями, выпуклые и плоские, блестящие и матовые, белые, желтоватые и серые		

№	Тест	Результат
8	3-й морфотип (R)	средние (более 2 мм), с шероховатыми краями, преимущественно плоские с приподнятым центром, матовой поверхностью колонии с отсутствующей зоной гемолиза. Цвет колоний белый с желтоватым оттенком или серый с голубоватым оттенком. Консистенция колоний маслянистая, легко снимаются с поверхности
<b>Гемолитическая активность</b>		
9	Классический метод	слабый $\beta$ -гемолиз через 48 ч
10	Микрометод	слабый $\beta$ -гемолиз через 15-30 мин
<b>Ферментативные свойства</b>		
11	лизин, уреазы, аргинин, оксидаза, орнитиндекарбоксилаза, каталаза, цитохромоксидаза, индол (через 48 ч), утилизация цитратов, восстановление нитратов	положительный
12	сероводород, индол, арабиноза, манноза, сахароза, глюкоза, манит, лактоза, адонит, триптофандезаминаза, фенилаланиндезаминаза, дезоксирибонуклеаза, желатиназа, тирозин, факторы роста X и V	отрицательный
<b>Устойчивость к антимикробным средствам</b>		
13	бензилпенициллин, ампициллин, карбенициллин, амоксицилин; стрептомицин; ванкомицин; цефазолин, цефтазидим, цефотаксим, цефалотин; эритромицин, олеандомицин; фузидин, фурадипан; нистатин, клотримазол, флуконазол, амфотерин В; рифампицин; линкомицин, клиндамицин	высокий уровень
14	имипенем; амикацин, неомицин, канамицин, гентамицин, сизомицин; фурадонин; цефоперазон; ципрофлоксацин; тетрациклин	средний уровень
15	бацитрацин; цефепим, мономицин, колистин, оксалиновая кислота, азитромицин, окситромицин, доксициклин, левомицетин, хлорамфеникол	низкий уровень
<b>Температура культивирования</b>		
16	< 35	рост R и SR колоний
17	35-37	активный рост S колоний
18	38-52	рост снижается ( $3,1 \times 10^9$ - $1,6 \times 10^4$ КОЕ/мл)
<b>Показатель кислотности среды (pH)</b>		
19	< 3	отсутствие роста
20	4-8	активный рост
21	> 8	снижение роста

ми, аминокислотами, ферментами и микроэлементами (TCA, Vacto PPLO agar), также обильно и быстро растут на некоторых селективных средах, не предназначенных для их культивирования и содержащих ингибиторы роста и другие агрессивные вещества (менингококкагар, дифтерийная среда, среда для иерсиний и псевдотуберкулеза, среда Сабуро, Эндо). Компоненты стафилококкагара и МПА с цетримидом ингибировали рост бордетелл.

Таким образом, ни одна из исследованных питательных сред полностью не удовлетворила нашим требованиям по ростовым, селективным и элективным качествам, что обусловило целесообразность проведения целенаправленного активного поиска компонентов для культивирования бактерий *B. bronchiseptica*.

Задача поиска необходимых компонентов осложнялась наличием значительного межфакторного взаимодействия. Вследствие этого мы проводили многофакторный поиск, используя индивидуальные химические соединения в серии многофакторных экспериментов. При этом старались рассмотреть максимальное количество качественно разнообразных вариантов условий культивирования при минимальном количестве экспериментов.

Необходимость учета взаимодействия различных компонентов была очевидна, так как отдельные факторы, не оказывающие сами по себе прямого влияния на активность роста бордетелл, могли существенно влиять на него благодаря взаимодействию с другими компонентами среды.

Исходя из литературных данных и собственных исследований по культивированию тест-штаммов на агаровых средах, в качестве питательной основы разрабатываемой среды остановились на ферментативном пептоне.

Выбор был обусловлен аминокислотным составом пептона, который представлен 17 аминокислотами: аспарагиновая кислота, треонин, серин, глутаминовая кислота, глицин, аланин, цистин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, тирозин, фенилаланин,

лизин, гистидин, аргинин, триптофан. Кроме этого, питательная основа богата азотом, минеральными веществами, рН раствора  $7,1 \pm 0,1$  [15].

Экспериментальным путем подбирали оптимальную концентрацию основы. Исследования ростовой активности *B. bronchiseptica* на средах с различным содержанием пептонов (10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 60,0 г/л) проводили в течение 48 ч. Установили, что наибольшую удельную скорость роста бордетелл наблюдали через 24 ч выращивания в среде, содержащей 20,0-30,0 г/л пептона. При этом показатель КОЕ/мл составил  $(2,54 \pm 3,54) \times 10^9$  при рН=7,2±0,2. В других вариантах показатели были ниже. Введение в пептон дополнительно аминокислот (метионин, цистеин, пролин, глутаминовая кислота) и витаминов (аскорбиновая кислота, никотиновая кислота) не оказало существенных изменений в активности роста *B. bronchiseptica*, поэтому их не стали включать в состав основы.

Таким образом, питательная основа, содержащая 20,0 г/л пептона, была взята в качестве базовой для дальнейших исследований.

Подбор оптимальной концентрации железо- и магниесодержащих солей (шаг 0,1) осуществляли на 3-х уровнях концентраций для каждого компонента. Уровень фосфатов не определяли, так как они содержатся в пептоне. Наилучшие ростовые показатели бордетелл наблюдали при содержании в среде (г/л): 0,1 - железа сернокислого и 0,4-0,5- сернокислого магния. Так как максимальный эффект влияния солей железа соответствовал минимальному значению концентрации, матрица планирования была смещена на шаг (0,01) в сторону уменьшения концентрации. Таким образом, подобрали оптимальную концентрацию железосодержащих солей – 0,02-0,03 г/л.

Среда должна быть изотонична. Хлорид натрия позволяет регулировать изотоничность в концентрациях 4,5-6,5 г/л. Чтобы во время роста микроорганизмов кислые или щелочные продукты их жизнедеятельности не избыточно изменяли уровень рН, среды

должны обладать буферностью, т. е. содержать вещества, нейтрализующие продукты обмена. В качестве нейтрализатора продуктов жизнедеятельности бордетелл в состав среды может быть введен крахмал в количестве 2,5-5,0 г/л, который *B.bronchiseptica* не ферментирует.

В качестве элективных биохимических маркеров решили использовать уреазную активность и отсутствие ферментации сахаров. Введение лактозы повышает селективность среды для роста лактозоположительных ассоциантов и технологичность, так как лактоза не образует токсичных соединений с азотсодержащими компонентами при автоклавировании в составе готовой среды в режимах до 1 атм., 30 мин. *B.bronchiseptica* во время роста, а также ферментации мочевины, защелачивает субстрат, вследствие чего происходит изменение цвета среды (с зеленого на синий) и потемнение вершины колоний бордетелл (через 24 ч), тогда как бактерии, ферментирующие сахара и многоатомные спирты, подкисляют среду (желтый цвет).

Используя многофакторный эксперимент, подобрали оптимальные концентрации элективных компонентов (г/л): мочевина 5,0; лактоза 0,7; бромтимоловый синий 0,2.

Для придания необходимой плотности в питательную среду добавляли агар в количестве  $12,0 \pm 2,0$  г/л. Оптимальный показатель pH среды для роста бордетелл  $7,0 \pm 0,2$  (рисунки 1-2).

Важным звеном подбора компонентов питательной среды для первичного выделения возбудителя является качественный выбор селективных компонентов, не влияющих на ростовые качества бордетелл, при этом активно подавляющих ассоциантов. В качестве селективных компонентов в основном используют антимикробные средства, химические соединения - ингибиторы роста бактерий, индикаторы и красители.

Анализ полученных результатов показал: бактерии *B.bronchiseptica* выдерживают высокие концентрации хлорида бария и мочевины, ниже показатели по уксуснокислому свинцу. На качество роста изучаемых штаммов бордетелл не влияют концентрации мо-

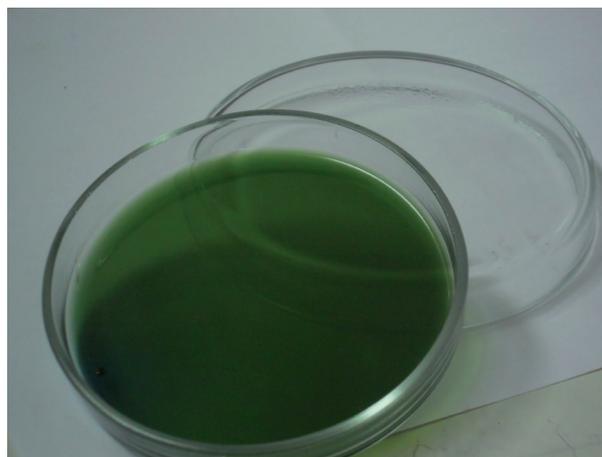


Рис. 1 – Вид разрабатываемой среды после приготовления

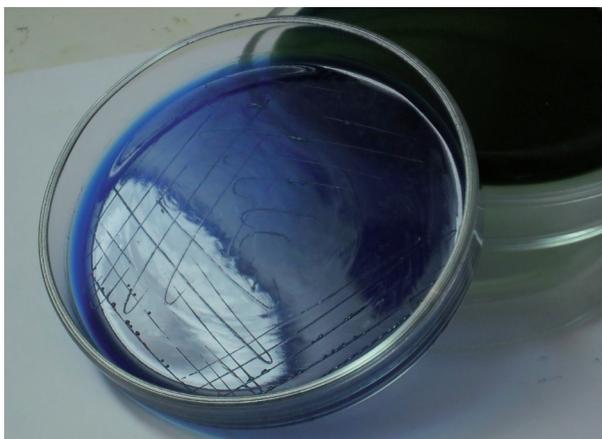


Рис. 2 – Вид разрабатываемой среды после 24-часовой инкубации *B. bronchiseptica*

чевины и хлорида бария в субстрате в количестве 10 г/л, уксуснокислого свинца – 6,5 г/л.

Предельные концентрации индикаторов и красителей для бактерий *B.bronchiseptica* составили: феноловый красный - не более 1 г/л; бромтимоловый синий - 10 г/л; метиловый оранжевый - 0,1 г/л; фуксин кислый - 0,1 г/л; водный голубой - 10 г/л; бриллиантовый зеленый - 0,1 г/л; конго красный – 100 г/дм<sup>3</sup>; сафранин - 0,1 г/л; генциан виолет - 1 г/л; мурексид - 10 г/л.

Результаты проведенных исследований показали высокую устойчивость бордетелл к цефазолину, цефалотину и ампициллину, тогда как возможные ассоцианты были высокочувствительны. По нашим данным, максимальная подавляющая концентрация цефазолина натриевой соли в субстрате составила 0,004 г/л, ампициллина - 0,0025 г/л.

Поскольку антимикотические препараты не оказывают влияния на рост клинических изолятов *B.bronchiseptica*, в состав дифференциально-диагностической среды можно ввести флуконазол, миконазол, подавляющие рост большинства грибов-симбионтов данного возбудителя. Антимикотики также позволяют увеличить сроки хранения готовой среды в 2-3 раза. По нашим данным, максимальная подавляющая концентрация флуконазола, миконазола составила 0,002 г/л.

#### Выводы

В результате проведенного научного поиска компонентов для культивирования бактерий *B.bronchiseptica* установили наиболее оптимальные концентрации питательной основы (ферментативный пептон 20-30 г/л), солей (железа сернистого - 0,02-0,03 г/л, сернистого магния - 0,4-0,5 г/л, хлорид натрия 4,5-6,5 г/л), нейтрализаторов продуктов обмена (крахмал 2,5-5,0 г/л), элективных компонентов (мочевина 5,0 г/л, лактоза 0,7 г/л, бромтимоловый синий 0,2 г/л). В качестве селективных добавок возможно применение антимикробных средств (цефазолин - 0,004 г/л, ампициллин - 0,0025 г/л), антимикотических препаратов (флуконазол, миконазол - 0,002 г/л) и ингибиторов ассоциантов (хлорид бария - 5,0 г/л). Оптимальный показатель pH среды для роста бактерий *B.bronchiseptica* 7,0±0,2.

#### Библиографический список

1. Ценева, Г.Я. Микробиологическая характеристика возбудителя коклюша и лабораторная диагностика коклюша / Г.Я. Ценева, Н.Н. Курова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2003. - № 4. - С. 329-341.
2. Молекулярно-генетический метод ускоренного выявления штаммов *B.pertussis*, обладающих различными *ptx* генами / О.Ю. Борисова, С.Ю. Комбарова, Н.Т. Гадуа, И.К. Мазурова // Журнал микробиологии. - 2008. - №5. - С. 80-83.
3. Васильева, Ю.Б. Совершенствование способов детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.

- 2013. - №3 (23). - С. 46-52.

4. Каратаев, Г.И. Мобильные генетические элементы *Bordetella pertussis* и их роль в регуляции генов вирулентности возбудителя коклюша: автореферат дис. ... докт. биологических наук / Г.И. Каратаев. - Москва, 2008. - 43 с.

5. Выделение бактериофагов *Listeria monocytogenes* методом индукции / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов, И.Г. Швиденко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №1 (21) - С. 45-49.

6. Ковалева, Е.Н. Перспективы применения бактериофагов *Listeria monocytogenes* / Е.Н. Ковалева, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов [и др.] // Животноводство России в условиях ВТО: от фундаментальных исследований до высокопродуктивного производства: Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, 9-11 апреля 2013. - Орел: Изд-во Орел ГАУ, 2013. - С. 181 - 184.

7. Куклина, Н.Г. Конструирование питательных сред для выделения и индикации бактерий рода *Aeromonas* / Н.Г. Куклина, И.Г. Горшков, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. - Ставрополь: «Энтропос», 2013. - №64(1/2013). - С. 75-77.

8. Горшков, И.Г. Сравнительный анализ роста бактерий родов *Aeromonas* и *Pseudomonas* на средах с красителями / И.Г. Горшков, Н.Г. Куклина, Д.А. Викторов, Д.А. Васильев // Вестник ветеринарии. - Ставрополь: «Энтропос», 2012. - №63(4/2012). - С. 38-39.

9. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий / Методические указания. - МУК 4.2.2317-08.

10. Методы контроля бактериологических питательных сред / Методические указания. - МУК 4.2.2316-08.

11. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам / Методические указания. - МУК 4.2.1890-04.

12. Васильев, Д.А. Индикация *Bordetella*

*bronchiseptica* из объектов внешней среды и клинических образцов / Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Е.Н. Семанина, Е.Г. Семанин // Материалы V-й Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути решения». – Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. – Т. II – С. 18-22.

13. Васильев, Д.А. Выделение и идентификация *Bordetella bronchiseptica* от животных / Д.А. Васильев, Д.Г. Сверкалова, А.В. Мстиленко, Ю.Б. Васильева // Естественные и

технические науки. - 2010. - № 5. - С. 233-235.

14. Бирюков, В.В. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза / В.В. Бирюков, В.М. Кантере // М.: Наука, 1985. – 296 с.

15. Султанов, З.З. Разработка и усовершенствование технологий получения микробиологических питательных основ и сред // Автореф. дис. докт. биол. наук. Махачкала. - 2008. – 45 с.

УДК 619:636.09:633.88

## ПРИМЕНЕНИЕ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ВОЛСТАР» В СВИНОВОДСТВЕ

**Помещиков Иван Андреевич, аспирант**

**Волков Алексей Анатольевич, доктор ветеринарных наук, заведующий кафедрой «Терапия, акушерство и фармакология»**

**Староверов Сергей Александрович, доктор биологических наук, профессор кафедры «Терапия, акушерство и фармакология»**

**Козлов Сергей Васильевич, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Терапия, акушерство и фармакология»**

*Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова*

*410012, г. Саратов, Театральная пл., 1; тел.:(8452)-233292;*

*e-mail: krasav4ik91@mail.ru*

**Ключевые слова:** гиповитаминоз, продуктивность, свиноводство, показатели крови, витамины.

*В опыте на поросятах изучена эффективность витаминно-минерального комплекса «Волстар» при гиповитаминозах. Установлено, что применение витаминно-минеральной добавки «Волстар» способствует нормализации обмена веществ у поросят, а также повышению жизнеспособности молодняка и увеличению продуктивности.*

### **Введение**

Свиноводство является одной из наиболее высокопродуктивных отраслей животноводства, оно обеспечивает более трети мясного потребления. Интенсивное производство свинины предусматривает организацию полноценного кормления животных, удовлетворение потребности их организма в основных питательных и биологически активных веществах, в том числе в витаминах.

Дефицит витаминов приводит к нарушению специфических биохимических реакций в организме, морфофункциональным изменениям в органах и тканях, развитию клинических признаков гиповитаминозов.

При сложившейся технологии свиноводства гиповитаминозы являются ведущей патологией обмена веществ, основной причиной снижения резистентности организма и приводит к массовым респираторным,