

собственные исследования по вопросу выделения и идентификации бактерий вида *Aeromonas hydrophila*, а также устойчивость к антибиотикам.

Литература

1. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Ф. // Определитель зоопатогенных микроорганизмов, справочник – М., 1995 – С. 227.
2. Сомов Г.П., Варвашевич Т.Н. // Журн. микробиол. — 1992. — №4. - С. 62 — 66
3. G. Castro-Escarpulli et.al. // Internacional journal of food microbiology 84 (2003) 41 – 49
4. Krovacek K // J Food Prot. 2006 Jul ;69:1713-6

Разработка методов серологической диагностики бордетеллёза

Фуныгин А.М., Семенков И.В. – студенты 4 курса ФВМ

Руководители: Васильева Ю.Б., Сверкалова Д.Г.

ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Бордетеллез (бронхосептикоз) - респираторная инфекция, которую вызывают мелкие, аэробные, грамотрицательные коккобациллы *Bordetella bronchiseptica*. Изначально считалось, что этот возбудитель вызывает инфекционный трахеобронхит ("питомниковый кашель") у собак, а в последние годы выяснилось, что *Bordetella bronchiseptica* вызывает сходное по клинической картине заболевание у человека и других домашних животных. Особенно часто это заболевание наблюдается у людей с ослабленным иммунитетом, а у животных при скученном содержании.

Проблема заболеваемости бордетеллёзной инфекцией среди домашних животных и высокая вероятность передачи возбудителя людям обуславливает необходимость разработки современных высокочувствительных и специфичных методов выявления *Bordetella bronchiseptica*, позволяющих выделить и идентифицировать возбудителя на ранних стадиях заболевания (Б.Ф. Шуляк, 2003; M.S.Dworkin et al., 1999).

Микробиологический метод идентификации *Bordetella bronchiseptica* является длительным, трудоемким и иногда из-за атипичных свойств некоторых штаммов дает ложно отрицательные результаты.

Наиболее простым, краткосрочным и экономически выгодным является серологический метод диагностики, который обеспечит разработку научно обоснованных методов лечения и профилактики заболевания, снижение количества летальных исходов и экономию затрат в лечении бордетеллёза.

В связи с этим, целью нашей работы является разработка серологического метода диагностики бордетеллёза.

Для серодиагностики была апробирована сывороточно-капельная реакция агглютинации (СКРА): подготовка антигена, получение гипериммунных сывороток, постановка реакции.

В качестве антигена был взят референс-штамм *Bordetella bronchiseptica* 8344. Для выбора оптимального времени накопления антигенной массы и определения её концентрации использовались показатели оптической плотности бактериальной массы через 2, 4, 8, 10, 12, 24, 32, 48, 72 и 96 часов выращивания. Исследования проводили с помощью микропланшетного

фотометра Anthos Labtec Instruments (Австрия) и программы по обработке результатов Adap 1.5 (схема 1).

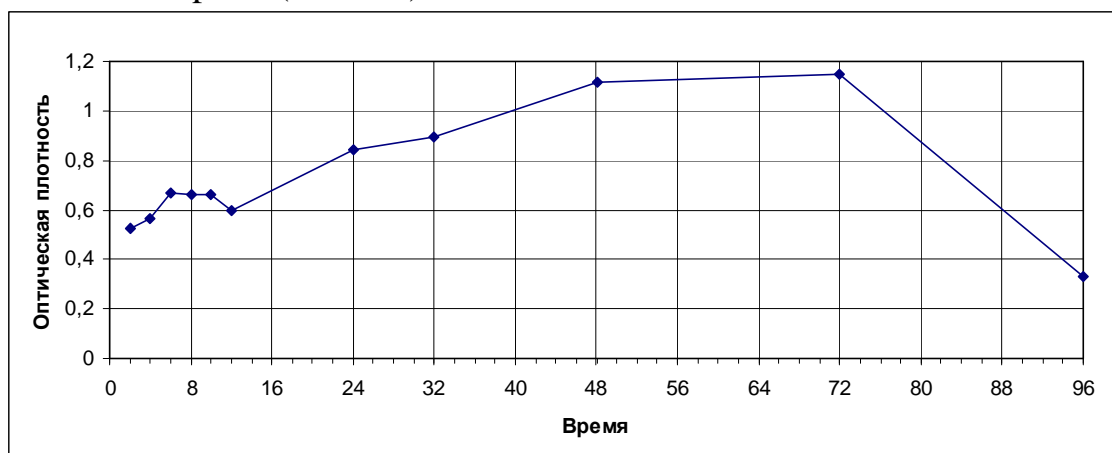


Схема 1. Характеристика роста массы *Bordetella bronchiseptica*

Полученные данные показали, что оптимальное время накопление бактериальной массы составляет 72 ч, при температуре 37°C. Для инактивации *Bordetella bronchiseptica* в один из образцов был добавлен мертиолят (1:10000), другой подвергся кипячению на водяной бане в течение 30 мин. В третий для инактивации и дезинтеграции добавили SDS (додецилсульфат натрия) детергент, разрушающий нативную структуру клетки. Четвертый образец подвергли ультразвуковой дезинтеграции.

Затем все образцы подвергались центрифугированию для очистки клеток от питательного субстрата. Центрифугировали при 3000 g в течение 20 мин, осадок отмывали физиологическим раствором и вновь центрифугировали при 3000 g в течение 20 мин. К осадку добавили 5 мл физиологического раствора и получили готовый антигенный препарат 4-х видов. Затем проверяли данные антигенные препараты на стерильность (полноту инактивации) высевом на плотную питательную среду (МПА).

Получив отрицательный результат иммунизировали кроликов.

Гипериммунную сыворотку получали от кроликов после курса иммунизации по следующей схеме:

- 1 введение - 0,5 мл антигенного препарата с добавлением 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда (Difco), для повышения протективных свойств, ввели внутримышечно.
- Следующие введения повторяли через каждые три дня, внутривенно в краевую вену уха кроликов по 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 и 1,5 мл антигенного препарата.
- по истечению недели после курса иммунизации осуществляли забор сыворотки и проводили реакцию агглютинации.

Для постановки реакции агглютинации на поверхность хорошо обезжиренного предметного стекла пастеровской пипеткой наносили две большие капли сыворотки и одну каплю физиологического раствора. Затем в каплю физиологического раствора и в одну из капель сыворотки бактериологической петлей вносили бактериальную культуру и тщательно

растирали, чтобы капля жидкости сделалась равномерно-мутной. Реакцию ставили при комнатной температуре. Читку реакции проводили на тёмном фоне с помощью агглютиноскопа или малого увеличения микроскопа. При положительной реакции в капле, где соединены сыворотка и бактериальная культура, отмечалась агглютинация бактерий в виде мелкозернистых пластинок, крупинок или хлопьев с одновременным просветлением суспензии. Жидкость в контроле антигена оставалась равномерно-мутной, а в контроле сыворотки - прозрачной. Положительную реакцию регистрировали в течение первых 5 минут со всеми исследуемыми сыворотками и соответствующими антигенными препаратами.

Таким образом, приготовленный по предлагаемой методике антигенный препарат мы рекомендуем использовать для серодиагностики бордетеллёза в РА. Данный метод позволяет поставить точный диагноз в течение суток, тогда как бактериологический метод дает окончательный результат через 3-4 суток.

Как известно для лечения и диагностики инфекционных заболеваний животных требуется глубокое понимание биологических и антигенных свойств возбудителя. Изучая патогенез бордетеллёза, можно прийти к пониманию роли отдельных факторов в формировании антигенных свойств *Bordetella bronchiseptica*, а также механизмов развития заболевания.

Значение разработки высокочувствительных и специфичных методов выявления *Bordetella bronchiseptica* очень велико, и учитывая то что данные о антигенных и биологических свойствах возбудителя углубляются и расширяются есть основания думать что все вопросы связанные с диагностикой и лечением бордетеллёза животных со временем будут решены.

Литература

1. Шуляк Б.Ф. Руководство по бактериальным инфекциям собак. Т.2. Грамотрицательные бактерии. М.: ОЛИТА, 2003. – 608с.
2. Dworkin M.S., Sullivan P.S., Buskin S.E. et al. *Bordetella bronchiseptica* infection in human immunodeficiency virus-infected patients. // Clin Infect Dis. – 1999. - №28. – P. 95-99.

Комплексные методы профилактики парагриппа телят в учебно-опытном хозяйстве УГСХА

Терновая Е. – студентка 5 курса ФВМ

Руководитель: Васильева Ю.Б.

ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

За время прохождения производственной практики в учхозе УГСХА МТФ-2 мы столкнулись в распространением такого инфекционного заболевания у молодняка, как парагрипп-3.

Парагрипп-3 (транспортная лихорадка, параинфлюэнца-3) – это остро протекающее контагиозное вирусное заболевание молодняка крупного рогатого скота, характеризующееся поражением органов дыхания.

Предрасполагающими факторами к широкому распространению инфекции в учхозе УГСХА, по нашему мнению служат: перегруппировка скота в связи с увозом некоторых телят, сквозняки, поение холодной водой,