

УДК 619:616.98:579.842.14:636.92.087.72:612.1

ВАСИЛЕНКО Н.В., аспірант; УШКАЛОВ В.О., д-р вет. наук;

ВИГОВСЬКА Л.М., наук. співробітник

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

РОМАНЬКО М.Є., канд. біол. наук

Национальний науковий центр "ІЕКВМ"

ГОЛОВАХА В.І., д-р вет. наук

Білоцерківський державний аграрний університет

БЕЗВІН Є.І., нач. цеху

Сумська державна біологічна фабрика

## ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВИРОБНИЧИХ ШТАМІВ *PASTEURELLA MULTOCIDA* ПІСЛЯ ДОВГОТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ

В результаті проведеної роботи відновлені основні біологічні властивості культур штамів *Pasteurella multocida* №№ 15, 16, 17, 550, 2, 5 і Smol після тривалого зберігання в ліофілізованому стані шляхом пасажування штамів на сприйнятливих лабораторних тваринах. Встановлено, що виробничі штами Пастере, які 10 років знаходилися в ліофілізованому вигляді, зберегли патогенність для кролів. Визначені особливості патолого-анатомічних змін за нагострої форми перебігу експериментально відтвореного пастерельозу кролів: численні крапкові крововиливи на стінці дихального горла і налгортанику та по кільцях трахеї; у грудній порожнині – крововиливи, наявний світлий ексудат, легені гіперемійовані, виражена мармуровість; селезінка сильно збільшена, гіперемійована, наявні дрібні вогнища некрозу.

У колекції НЦШМ задепоновано 435 штамів мікроорганізмів. Одним з головних завдань, покладених на Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, є забезпечення виробничими штамми підприємств біологічної промисловості України. Відповідно до існуючих вимог, штами, які передаються на біофабрики, знаходяться в біологічно активному стані, тобто мають повноцінні антигенні та імуногенні характеристики. Тож центральним завданням роботи в НЦШМ є вивчення біологічних властивостей штамів у колекції, визначення оптимальних термінів зберігання та підтримання їх у біологічно активному стані. Одним з пріоритетних завдань є дослідження властивостей виробничих штамів *Pasteurella multocida*.

**Мета** досліджень – вивчення біологічних властивостей культур штамів після тривалого зберігання в ліофілізованому стані.

**Матеріал і методи дослідження.** У дослідах використовували виробничі штами *Pasteurella multocida* №№ 15, 16, 17, 550, 2, 5 і "Smol" ліофілізно-висушені 06.02.1997. Для відновлення культурально-морфологічних і біохімічних властивостей культур штамів пасажували на сприйнятливих тваринах – кролях [2, 4, 5].

Із органів загиблих тварин проводили висіви на живильні середовища Хотінгера з додаванням сироватки крові ВРХ та на кров'яний агар (рН середовищ 7,2–7,4), культивування – при  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ . Здійснювали пересіви мікробних та виділення чистих культур з визначенням культурально-морфологічних властивостей, мікроскопією мазків, фарбованих за Грамом. Визначали ферментативну активність штамів висівами культур на середовища Гісса [2, 7].

**Результати досліджень та їх обговорення.** В Україні вакцина проти пастерельозу кролів промисловим способом не виготовляється. Але в колекції НЦШМ зберігаються штами *Pasteurella multocida*, які входять до складу "Формолвакцини проти пастерельозу кролів". З цими штамми систематична робота не проводилась. В останні роки загострилася проблема з інфекційними хворобами кролів, серед яких одне з провідних місць займає пастерельоз. Хронічне пастерелоносійство створює зниження резистентності організму, зокрема неповноцінний імунітет проти геморагічної хвороби кролів. Тому назріла потреба ефективних засобів специфічної профілактики пастерельозу та проблема боротьби з геморагічною хворобою, що перебігає у поєднанні з ним.

Дослідні культури штамів пастерел після тривалого зберігання мали наступні культурально-морфологічні показники: добовий ріст бульйонних культур у вигляді помутніння з гелеподібним осадом, ріст агарових культур у вигляді округлих, випуклих колоній з непрозорих, діаметром 1–3 мм; під час мікроскопії мазків спостерігали однорідні грамнегативні овоїди, палички (табл. 1).

Було поставлено завдання визначити патогенність штамів для кролів після зберігання у ліофілізованому вигляді протягом 10 років. З цією метою тварин заражали внутрішньом'язово (у ділянці внутрішньої поверхні стегна) добовою бульйонною культурою в дозі  $0,5 \text{ см}^3$ . За результатами

пасажування штами умовно поділено на три групи за ступенем патогенності: найбільш патогенні – *P. multocida* №16 і "Smol", потім штами № № 550, 2, 5, 15 та штама №17 (табл. 2).

Таблиця 1 – Морфологія та культуральні показники культур пастерел

Штама <i>Pasteurella multocida</i>	Дата ліофілізації	Ріст на МПБ, 24 год	Ріст на МПА, 24 год		Мікроскопія за Грамом
№№15, 2, 5	06.02. 1997	Помутніння, гелеподібний осад	Непрозорі колонії S-форм, кремові	Діаметр колоній – 1–3 мм	Однорідні грам-негативні овоїди, палички
№16				Діаметр колоній – 1,5–2 мм	
№№17,550 і "Smol"				Діаметр колоній – 1,5–3 мм	

Здійснювали патолого-анатомічний розтин загиблих тварин і відбирали найбільш уражені внутрішні органи (серце, легені).

Встановлені наступні патолого-анатомічні зміни у загиблих і дослідних тварин: на стінці дихального горла та надгортанику спостерігали численні дрібні крапкові крововиливи; на трахеї – крововиливи по кільцях; у грудній порожнині – крововиливи, світлий ексудат; легені гіперемійовані, виражена мармуровість; сильно гіперемійовані серце і печінка з подібними геморагіями; селезінка сильно збільшена, гіперемійована, наявні некрози; нирки незначно збільшені, рожево-червоні на розрізі з відшаруванням кіркового шару від мозкового. Не виявлені ознаки геморагічного діатезу в шлунково-кишковому каналі, що, на нашу думку, пов'язано з надгострим перебігом захворювання [1,6].

Таблиця 2 – Результати експериментального відтворення пастерельозу у кролів

Штама <i>Pasteurella multocida</i>	Доза зараження, см <sup>3</sup>	Спостереження за тваринами	
		0–6 год	12–24 год
"Smol" №16	0,5	Клінічні ознаки захворювання відсутні	Білі пінисті виділення з носових отворів; через 22 год після зараження тварини загинули; відмічали виражене задубіння трупів
№550 №2 №5 №15	0,5	Клінічні ознаки захворювання відсутні	Загибель тварин з вираженими ознаками задубіння трупа через 22 год після зараження
№17	0,5	Клінічні ознаки захворювання відсутні	На 24 год виражене пригнічення тварин і агональний стан

Порівняльна з літературними даними характеристика патолого-анатомічних змін хворих на пастерельоз кролів під час експериментального відтворення наведена в таблиці 3.

Таблиця 3 – Порівняльна характеристика патолого-анатомічних змін за пастерельозу кролів

Досліджувані органи	Літературні дані	Експериментальне зараження
	гостра (надгостра) форма перебігу пастерельозу	
Стінка дихального горла	Численні, переважно дрібні, крапкові крововиливи	
Надгортаник	Дані відсутні	Крапкові крововиливи
Трахея		Крововиливи по кільцях
Грудна порожнина		Світлий ексудат, крововиливи
Серозна оболонка грудної порожнини	Дрібні, крапкові крововиливи, запальна гіперемія	Без змін
Серозна оболонка черевної порожнини	Численні крововиливи; запальна гіперемія	Без змін
Легені	Набряклі зі змінами, характерними для початкової стадії крупозної пневмонії, гіперемія, крововиливи	Гіперемія, крововиливи, мармуровість
Серце	Геморагії	Сильно гіперемійоване
Слизова оболонка кишечника	Геморагії, крапкові більш крупні крововиливи	Крапкові крововиливи
Селезінка	Злегка набрякла, сильно гіперемійована	Збільшена, сильно гіперемійована, наявні дрібні вогнища некрозу
Печінка	Перероджені	Сильно гіперемійована
Нирки		Незначно збільшені, рожево-червоні на розрізі, відшарування кіркового шару від мозкового

Із серця загиблих тварин було проведено висіви на живильні середовища та одержано чисті культури збудника.

Культуральні властивості і морфологія у пастерел були наступними: на рідких поживних середовищах ріст штамів мав вигляд рівномірного помутніння; на твердих – округлих гладеньких прозорих росинчастих колоній S-форм з рівними краями, які флуоресціюють у пронизливому світлі, діаметром до 2 мм (штами №№16, 2, 5, *Smol*), до 3 мм (штам № 15) та 4 мм (штам №550); під час мікроскопії мазків виявляли однорідні грамнегативні овоїди, які розміщуються поодинокі, попарно, рідше – в ланцюжках.

Ферментативна активність виділених культур проявлялась інтенсивно. Культури ферментували цукрозу, маніт, сорбіт, мальтозу без газоутворення, дульцит не ферментували.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Відновлені основні біологічні властивості культур штамів *Pasteurella multocida* №№ 15, 16, 17, 550, 2, 5 і *Smol* після тривалого зберігання в ліофілізованому стані шляхом пасажування штамів на сприйнятливих лабораторних тваринах.

2. Встановлено, що виробничі штами пастерел, які 10 років знаходилися в ліофільно висушеному вигляді, зберегли патогенність для кролів.

3. Визначені особливості патолого-анатомічних змін за надгострої форми перебігу експериментально відтвореного пастерельозу кролів: численні крапкові крововиливи на стінці дихального горла і надгортаннику та по кільцях трахеї; у грудній порожнині – крововиливи, наявний світлий ексудат; легені гіперемійовані, виражена мармуровість; селезінка сильно збільшена, гіперемійована, наявні дрібні вогнища некрозу.

Подальші дослідження мають бути спрямовані на уточнення патогенезу експериментального відтворення пастерельозу у кролів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Інфекційні та інвазійні хвороби кролів /Л.С. Корнієнко, О.Б. Домбровський, С.І. Пономар, А.А. Антіпов. –Біла Церква, 2003. – 288 с.
2. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: Навч. посібник. – К.: Либідь, 2001. -144 с.
3. Ветеринарные препараты: Справочник / Ю.Ф. Борисович, Л.В. Кирилов; Под ред. Д.Ф. Осидзе. – М.: Колос, 1981. – 448 с.
4. Лабораторный практикум по общей микробиологии / Н.Б. Градов, Е.С. Бабусенко, И.Б. Горнова, Н.А. Гусаров. – М.: Дели принт, 2001. – 131 с.
5. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие / М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; Под ред. А.И. Нетрудова. – Изд. центр "Академия", 2005. – 608с.
6. Сахаров П.П., Метелкин, А.И. Гудков Е.И. Лабораторные животные. –М.:МЕДГИЗ, 1952. – 328 с.
7. Справочник ветеринарного лаборанта / Ф.З. Андросов, И.Я. Беляев, Р.Т. Клочко и др.; Под ред. В.Я. Антонова. – М.: Колос, 1981. – 248 с.

**Сравнительное изучение биологических свойств производственных штаммов *Pasteurella multocida* после длительного хранения**

**Н.В. Василенко, В.А. Ушкалов, Л.М. Выговская, М.Е. Романько, В.И. Головаха, Е.И. Безвин**

В результате проведенной работы восстановлены основные биологические свойства культур штаммов *Pasteurella multocida* №№ 15, 16, 17, 550, 2, 5 и *Smol* после продолжительного сохранения в лиофилизированном состоянии путем пассажирования штаммов на восприимчивых лабораторных животных. Установлено, что производственные штаммы пастерел, которые 10 лет находились в лиофильно высушенном виде, сохранили патогенность для кролей. Определены особенности патолого-анатомических изменений при сверхострой форме протекания экспериментально воспроизведенного пастерельоза кролей: многочисленные точечные кровоизлияния на стенке дыхательного горла и надгортанника и по кольцам трахеи; в грудной полости – кровоизлияния, имеется светлый экссудат; легкие гиперемированы, выражена мраморность; селезенка сильно увеличена, гиперемирована, видны мелкие очаги некроза.

**The comparison study of biological property of production species *Pasteurella multocida* after prolonged storage**

**N.Vasilenko, V.Ushkalov, L.Vigovskaya, M. Romanko, V. Golovacha, E. Bezvin**

During scientific work basic biological properties of cultural form *Pasteurella multocida* №№ 15, 16, 17, 550, 2, 5 and *Smol* after long preservation in liophilized condition, at passage form on laboratory animals. Established the peculiarity of pathology-anatomic changes at sharp form of experimental Pasterellosis of rabbits: numerous blood points on wall of throat and larynx and ring of trachea; in chest – light exudative; lungs have the hyperaemia and marbled; spleen vary big, with hyperaemia and necrotic hearth.

УДК 619:616.98:579.84.14

**ГАВРАСЬСВА Н.В.**, аспірант

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

#### **ДІАГНОСТИКА РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПІРАТОРНОГО СИНДРОМУ СВИНЕЙ (РРСС)**

На основі літературних джерел викладена порівняльна характеристика різних методів лабораторної діагностики репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (РРСС), а саме вірусовидільна реакція нейтралізації, ІФА, полімераз-