

cination of Dogs and Wild Carnivores, // WHO/ Rab. Res/89.-32. - Geneva,-1989.

5. Joint OLE /WHO/ Conference on rabies: Towards the Elimination of rabies in Eurasia //27-30 May 2007, - Paris, - France.

6. Rupprecht C.E., Hanlon C.A., Blanton J. Oral vaccination of dogs with recombinant rabies virus vaccines // Virus. Res. 2005, №7.

7. Cliquet F., Guiot A.L., Sehumacher C., Maki J., Cael N., Barrat J. Efficacy of a square presentation of V-RY Vaccine baits in red fox, domestic dog and raccom dog // Dev. Biol. (Basel) 2008, № 131, 257-264.

8. Guidance for research on oral rabies vaccines and field application of oral vaccination of dogs against rabies. Geneva, 2007, 1-40.

9. Jacson A.C. Rabies Can. J. Neurological sci. 2000, Vol 27 № 4 p 278-283.

10. О результатах межведомственной комиссионной проверки культуральной лиофилизированной антирабической вакцины из штамма ТС-80 в неблагополучных по бешенству районах Ростовской и Новосибирской областей. //Акт, - 1990г. ВГНКИ ветпрепаратов.

11. Способ изготовления вирусвакцины против бешенства для оральной иммунизации диких плотоядных животных. Хрипунов Е.М., Евсеева С.Д., Жестерев В.И., Горшкова Т.Ф., Баньковский Д.О., Пархомцев С.А. // Патент 2250781, 2005 Бюл.№12.

12. Разработка вакцины для оральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства. Хрипунов Е.М., Егоров А.Н., Фертиков В.И., Пархомцев С.А. // Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных. Покров,2008, - с. 135 – 139.

13. Сафонов Г.А., Баньковский Д.О. Оценка антигенных и иммуногенных свойств штамма ERA G 333вируса бешенства // Вестник РАСХН 2010, №5, с. 61-63.

МИКРО-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ В-ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ *B. BRONCHISEPTICA*

А.В. Мاستиленко, соискатель кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Д.Г. Сверкалова, соискатель кафедры МВЭиВСЭ УГСХА

Работа проводилась в научно-исследовательском инновационном центре микробиологии и биотехнологии (НИИЦМиБ) кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Материалы и методы.

Для проведения работы использовался микроскоп БИОМЕД 6 № 4F 8663200/01, тринокуляр с видюнасадкой ДСМ 130 (1,3 м pixels, USB 20) и программным обеспечением; термостат ТС-80М-2; покровные и предметные стекла с лункой по ГОСТ 9284-75, бактериологическая петля Ø = 2 мм, масло иммерсионное $n_d = 1,515 \pm 0,002$; $n_g - n_c = 0,0106 \pm 0,0003$, $t 20^\circ\text{C} \pm 2^\circ$.

Гемолитическую активность проверяли на штаммах: *Bordetella bronchiseptica* №8344, *Bordetella bronchiseptica* №1, *Bordetella bronchiseptica* №7, *Bordetella bronchiseptica* № 214, *Bordetella bronchiseptica* №22-06, принадлежащих коллекции музея кафедры МВЭиВСЭ ФГОУ ВПО «Ульяновская ГСХА».

Для подтверждения наличия гемолитической активности изучаемых штаммов бактерий, пользовались стандартной методикой определения гемолиза с помощью кровяного агара с 10% содержанием дефибринированной крови человека, описанной в 4-ом издании «Микробиология с техникой микробиологических исследований» А.С. Лабинской. М., «Медицина», 1978 г.

Приготовления препарата «висячая капля» проводили так же по описанию А.С. Лабинской в 4-ом издании «Микробиология с техникой микробиологических исследований» М., «Медицина», 1978 г.

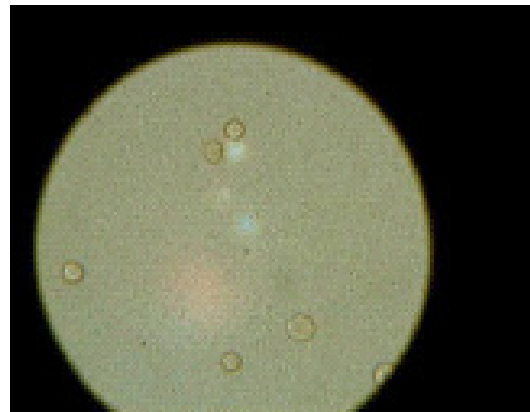
Определению гемолитических свойств бактерий всегда уделялось большое внимание в практической бактериологии. Гемолиз – один из важнейших факторов патогенности бактериальных культур, по типу гемолиза так же судят о принадлежности бактерий к тому или иному виду.

В наших исследованиях определение гемолитической активности штаммов бордетелл мы рассматривали как наличие патогенных свойств. Поэтому нам было важно, как можно скорее установить их наличие.

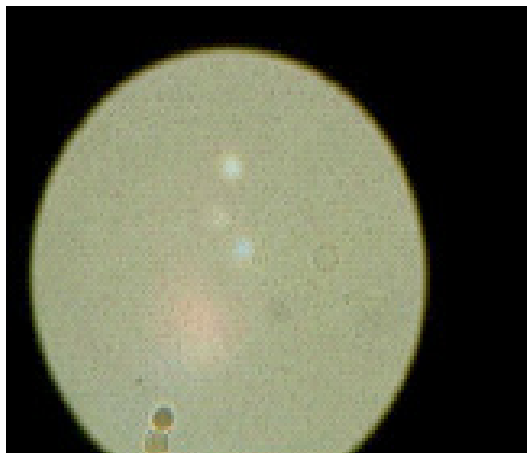
Гемолитическую активность штаммов *Bordetella bronchiseptica* наблюдали в поле зрения микроскопа БИОМЕД 6 № 4F 8663200/01 в течение 20 - 30 минут. Для микроскопии готовили препарат следующим образом. Готовилось разведение крови или эритроцитарной массы в стерильном физиологическом растворе, с таким расчетом, чтобы полученный раствор содержал в 1 мл не более 2×10^4 эритроцитов. Эритроцитарную взвесь в физиологическом растворе наносили пипеткой на предварительно обезжиренное чистое покровное стекло, затем, бактериологической петлей вносили 1-2 суточную агаровую культуру одного из штаммов *B. bronchiseptica* в каплю физиологического раствора с кровью. Далее готовили препарат по типу “висячая капля”, используя предметное стекло с лункой. Наблюдали под увеличением $\times 100 \times 15$ с использованием иммерсии, в течение 20-30 минут адсорбцию клеток бордетелл на поверхности эритроцитов и обесцвечивание последних, что свидетельствует о гемолизе (фото 1 - 3).



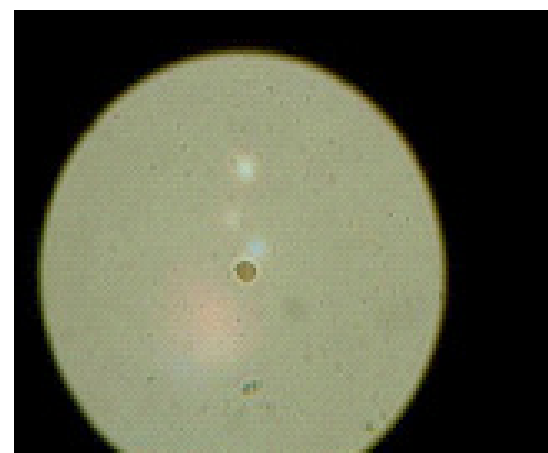
1. Эритроцит и культура референс-штамма *B. bronchiseptica* 7 в физиологическом растворе в первые минуты, увеличение $\times 100 \times 15$



2. Эритроцит и культура референс-штамма *B. bronchiseptica* 7 в физиологическом растворе через 15 минут, увеличение $\times 100 \times 15$



3. Эритроцит и культура референс-штамма *B. bronchiseptica* 7 в физиологическом растворе через 30 минут, увеличение $\times 100 \times 15$



4. Контроль. Эритроциты без культуры увеличение референс-штамма *B. bronchiseptica* 7 в физиологическом растворе в первые минуты, увеличение $\times 100 \times 15$

Параллельно каждую исследуемую культуру высевали “штрихом” на поверхность 10% кровяного агара из той же дефибринированной крови человека, который потом помещали в термостат с температурой 37°C. Через 24, 48, 72 часа наблюдали рост культур, гемолиз ярко проявлялся только через 48 часов инкубации и у тех же штаммов, у которых наблюдали картину гемолиза эритроцитов под микроскопом нашим методом (фото 5).

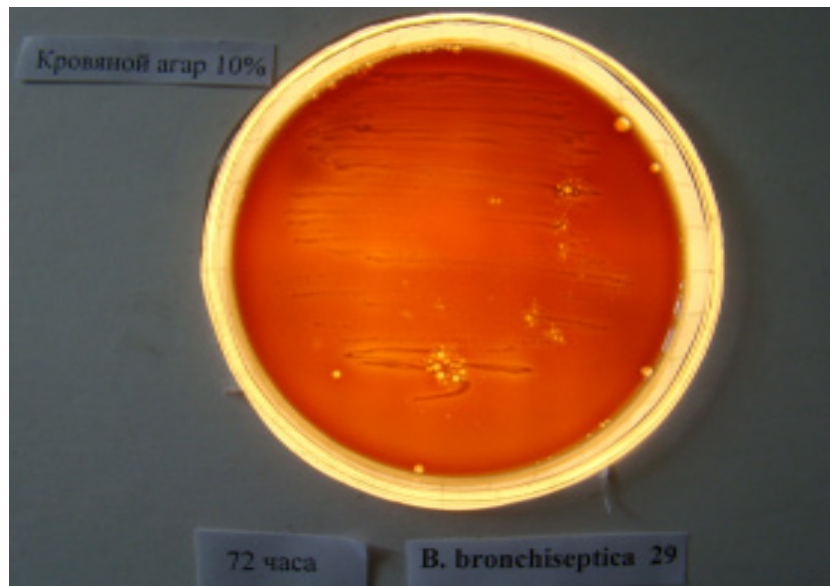


Рис. 5 Рост штамма *B. bronchiseptica* 7 на кровяном агаре с β -гемолизом

Выводы. Таким образом, возможно использование данного метода для определения гемолитической активности бордетелл, так как по точности результатов он не уступает стандартному методу, позволяет установить гемолитическую активность в короткие сроки (30 минут), что является преимуществом разработанного нами метода по сравнению со стандартным, который позволяет определить гемолитическую активность бордетелл только через 48-часов. Кроме того, разработанный нами микрометод определения гемолитической активности позволяет определить вышеуказанное свойство бактерий у штаммов, обладающих слабым β -гемолизом.

Используемая литература

1. Лабинская А.С. Микробиология с техников микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. – 394с.