

Журнал включен в список Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) Беларуси по отраслям: ветеринарные науки, биологические науки, сельскохозяйственные науки, приказ ВАК № 101 от 04.07.2005 г.

Учредители: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАН»

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Красочко П.А. – доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Якубовский М.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент ААН РБ

СЕКРЕТАРЬ:

Щемелёва Н.Ю. – кандидат ветеринарных наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Богуш А.А. – доктор ветеринарных наук, профессор

Ковалев Н.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор

Объедков Г.А. – доктор ветеринарных наук, профессор

Ломако Ю.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Володкович М. М., Ларькова А. Е.

Ответственность за достоверность данных несут авторы статей. Опубликованные материалы отражают точку зрения авторов и могут не совпадать с точкой зрения редколлегии.

ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АВТОРАМИ МАТЕРИАЛОВ ЖУРНАЛА «ЭПИЗООТОЛОГИЯ ИММУНОБИОЛОГИЯ ФАРМАКОЛОГИЯ САНИТАРИЯ» ССЫЛКА **ОБЯЗАТЕЛЬНА**

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Красочко И.А. – доктор ветеринарных наук, профессор (г. Минск)

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Василевич Ф.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (г.Москва)

Гулюкин М.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН и НААН Украины (г.Москва)

Еремец В.И. – доктор биологических наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ (г.Щёлково РФ)

Еремия Н.Г. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Заслуженный деятель науки Республики Молдова (г.Кишинев)

Жаворонок С.В. – доктор медицинских наук, профессор (г.Минск)

Курдеко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор (г.Витебск)

Нычик С.А. – доктор ветеринарных наук, профессор (г.Киев)

Самуйленко А.Я. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, академик НААН Украины (г.Щёлково РФ)

Стегний Б.Т. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, академик НААН Украины (г.Харьков)

Успенский А.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН (г. Москва)

Шабунин С.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (г.Воронеж)

Ятусевич А.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (г.Витебск)

ВСЕ СТАТЬИ РЕЦЕНЗИРУЮТСЯ

© «Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария»

СОДЕРЖАНИЕ**CONTENTS****ЭПИЗООТОЛОГИЯ****EPIZOOTOLOGY**

Самойлова Т.И., Аблова Т.А., Соглаева А.А., Цвирко Л.С., Азарова И.А. СИСТЕМА НАДЗОРА ЗА ЗАПАДНО-НИЛЬСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В СТРАНАХ ЕВРОПЫ (ОБЗОР)

Samoilova T.I., Ablova T.A., Soglaeva A.A., Azarova I.A., Tsvirko L.S. SURVEILLANCE SYSTEM FOR WEST NILE VIRUS INFECTION IN EUROPE (REVIEW)

Зайцева В.В. ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПРИРОДНЫХ КОМПОНЕНТОВ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ДЕРМАТОФИТОВ НА СУСЛО-АГАРЕ

Zaitseva V.V. INFLUENCE OF THE NATURAL COMPONENTS ON THE PRODUCTIVITY OF DERMATOPHYTES ON WORT AGAR

ИММУНОБИОЛОГИЯ**IMMUNOBIOLOGY**

Радюш И.С., Насонов И.В., Лазовская Н.О. КОНСТРУИРОВАНИЕ ВАКЦИНЫ ЖИВОЙ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА ЦЫПЛЯТ ИЗ ШТАММА «КМИЭВ-V118» И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЕЁ ПРИМЕНЕНИЯ

Radyush I.S., Nasonov I.V., Lazovskaya N.O. DESIGNING OF THE VACCINE LIVE AGAINST REOVIRUS TENOSINOVIT OF CHICKENS FROM SHTAMM "KMIEV-V118" AND ECONOMIC EFFICIENCY OF ITS APPLICATION

Нимещенко Н.П., Емельяненко А.А. ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ИНКУБАЦИОННЫХ ЯИЦ АКВАХЕЛАТНЫМИ РАСТВОРАМИ ГЕРМАНИЯ И СЕЛЕНА НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТЧНОГО ИММУНИТЕТА МОЛОДНЯКА ПЕРЕПЕЛОВ

Nischemenko N.P., Emelianenko A.A. EFFECT AQUACHELATAE SOLUTIONS GERMANIUM AND SELENIUM ON CELLULAR IMMUNITY THE YOUNG QUAIL AT THE INCUBATION PROCESSING OF EGGS

Левкивская Н.Д. ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПРИ ЛЕЧЕНИИ КАТАРАЛЬНОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ

Levkivskaya N.D. INDICATORS OF NONSPECIFIC RESISTANCE OF THE ORGANISM OF CALFS AT TREATMENT OF CATARRHAL BRONCHIAL PNEUMONIA

Кисера Я.В., Сторчак Ю.Г. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРОЛИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ДИПЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Kisera Y.V., Storchak Y.G. HISTOLOGIC CHANGES IN BODIES OF IMMUNE SYSTEM OF RABBITS AT INTRODUCTION OF THE INACTIVATED DIPLOKOKK INFECTION VACCINE

Нимещенко Н.П., Порошинская О.А., Саморай Н.Н., Стовбецкая Л.С. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ТРАНСФЕРАЗ И СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В КРОВИ ПЕРЕПЕЛОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИЗИНА, МЕТИОНИНА И ТРЕОНИНА

Nischemenko N.P., Poroshinskaya O.A., Samoray N.N., Stovbetskaya L.S. DYNAMICS OF CHANGES OF ACTIVITY OF TRANSFERASES AND THE CONTENT OF AMINO ACIDS IN SERUM OF BLOOD OF QUAILS UNDER THE INFLUENCE OF THE LYSINE, METHIONINE AND TREONIN

ФАРМАКОЛОГИЯ**FARMAKOLOGY**

Якубовский М.В., Григорьев Ю.В., Мяскова Т.Я., Красочко И.А., Андреева Т.Н. ИНСЕКТО-АКАРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ВЕТЕРИНАРНОГО «ЦИПЕРВЕТ» И ОСТАТОЧНЫЕ ЕГО КОЛИЧЕСТВА В ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА

Yakubovsky M.V., Grigoriev Y.V., Mjascova T.J., Krasochko I.A., Andreeva T.N. INSECT-ACARICIDE EFFICIENCY OF VETERINARY DRUG «CYPERVET» AND THE RESIDUAL AMOUNT THEREOF IN THE LIVESTOCK PRODUCTS

Якубовский М.В., Степанова Е.А., Красочко И.А. КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ С ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АССОЦИАТИВНЫХ ПАРАЗИТОЗОВ ЖИВОТНЫХ «ПЕНТАВЕТ» И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Yakubovsky M.V., Stepanova E.A., Krasochko I.A. ANTIPARASITIC COMPLEX DRUG WITH IMMUNOSTIMULATING ACTION FOR THE PREVENTION OF ASSOCIATED PARASITOSIS IN ANIMALS «PENTAVET» AND ITS INFLUENCE ON THE ORGANISM OF LABORATORY ANIMALS

Якубовский М.В., Красочко И.А., Щемелева Н.Ю. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО ПРЕПАРАТА «ИММУНОВЕТ»

Yakubovsky M.V., Krasochko I.A., Shchemialiova N.U. GRADE OF IMMUNOLOGY OF NEW DRUG «IMMUNOVET»

САНИТАРИЯ**SANITATION**

Каменская Т.Н., Кузьминский И.И., Насонов И.В., Иванов В.Е., Лукьянчик С.А., Черник М.И., Хендогоина О.В. СРЕДСТВО АНТИСЕПТИЧЕСКОЕ «ЭКСТРАФИТОМАСТ» ДЛЯ САНАЦИИ ВЫМЕНИ ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Kamenskaya T.N., Kuzminsky I.I., Nasonov I.V., Ivanov V.E., Lukyanchik S.A., Chernik M.I., Hendogina O.V. THE ANTISEPTIC OF "EKSTRAFITOMAST" FOR SANITATION OF THE UDDER OF THE LACTATING COWS

УДК 616.98:578.833.28-036.22(100)

Самойлова Т.И., доктор биологических наук, доцент*
Аблова Т.А., научный сотрудник*
Соглаева А.А., научный сотрудник*
Цвирко Л.С., доктор биологических наук, профессор**
Азарова И.А., кандидат биологических наук*

*РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, г. Минск

**УО «Полесский государственный университет», г. Пинск

СИСТЕМА НАДЗОРА ЗА ЗАПАДНО-НИЛЬСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В СТРАНАХ ЕВРОПЫ (ОБЗОР)

Резюме

В обзорной статье на основании анализа данных литературы и собственных исследований изложены материалы по эпиднадзору за природноочаговой арбовирусной инфекцией, вызываемой вирусом Западно-го Нила (ВЗН), среди людей и животных в европейских странах и Республике Беларусь. В последние годы отмечается тенденция изменения эпидемиологической картины инфекции в сторону увеличения числа смертельных случаев среди птиц и частоты неврологических случаев среди людей и лошадей. Более вирулентные штаммы вируса линии 2, эндемичные для Африки, недавно были обнаружены в центральной Европе. Для предотвращения расширения и повторного возникновения эпидемий Западно-Нильской инфекции необходим постоянный и комплексный контроль за циркуляцией возбудителя и воздействием на него экологических и антропогенных факторов.

Summary

In the review paper based on the literature analysis and own research materials in the field of surveillance for natural foci arbovirus infection caused by West Nile virus (WNV) in humans and animals in the European countries and the Republic of Belarus. In recent years WNV epidemiological pattern has evolved to increase bird mortality and a higher incidence of animal and human neurological cases. More virulent lineage 2 strains, endemic to Africa, have been recently detected in central Europe. To prevent the expansion and re-emergence of epidemics timely surveillance for WNV infection is needed including veterinary and entomological surveillance, as well as molecular surveillance of emerging strains.

Поступила в редакцию 09.02.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания, способные вызывать тяжелые эпидемиологические и медико-социальные последствия, привлекают особое внимание специалистов государственного санитарно-эпидемиологического надзора, а в случае зооантропонозных инфекций – и ветеринарной службы. Одним из таких заболеваний является Западно-Нильская инфекция (ЗНИ), которая некоторыми специалистами называется «лихорадка Западного Нила».

ЗНИ – трансмиссивное инфекционное заболевание, вызываемое вирусом Западного Нила (ВЗН), относящимся к антигенному комплексу японского энцефалита

рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* [7, 22, 27, 28, 31–34, 45, 47]. Впервые этот возбудитель был выделен в Африке (Уганда) К. Smithburn и соавт. в 1937 г. из крови лихорадящей больной при массовом обследовании населения на носительство вируса желтой лихорадки и по месту его обнаружения получил одноименное название «Западный Нил» [13]. ЗНИ является природноочаговой зооантропонозной арбовирусной инфекцией, которая в естественных условиях передается через укус кровососущих членистоногих (комаров, клещей, мошек) – векторов передачи инфекции [7–10, 17, 33, 37, 45, 47, 52, 57, 59].

В последние годы ЗНИ привлекает внимание не только потому, что произошли крупные вспышки в различных регионах мира, но и в связи с необычайно высокой смертностью среди заболевших людей, широтой охвата населения, а также увеличением числа смертельных случаев среди птиц и частоты неврологических случаев среди лошадей [17, 22, 23, 50, 53]. Следовательно, ЗНИ является проблемой как общественного здравоохранения, так и ветеринарной службы.

Если раньше в 50–60-х гг. прошлого столетия заболевания у людей протекали в виде спорадических «лихорадок», то с 1996 г. они стали отличаться эпидемическими вспышками, характеризующимися, в основном, менингитами и энцефалитами. Так, в 1996–2012 гг. такие вспышки были зарегистрированы в Румынии, России (Волгоградская, Астраханская области, Краснодарский край), США, Канаде, Израиле, Франции и др.

В 1999 г. ВЗН впервые был выявлен в Северной Америке и за 4 года распространился по всему континенту, достигнув Западного побережья. За период 1999–2010 гг. было инфицировано около 1,8 миллиона человек, включая более 12 000 случаев с синдромами энцефалит / менингит и 1 308 летальных случаев [31]. В США за 15-летний период (1999–2013 гг.) было зарегистрировано 39 557 случаев ЗНИ, включая 1 668 (4%) летальных. Из них нейроинвазивные заболевания составили 17 463 (44,1%) случая, включая 1 554 (9%) летальных [50].

В 2010 г. в Европе отмечены крупные вспышки ЗНИ в Греции, где зарегистрировано 262 случая (32 – закончились летально) и в Румынии – 57 (4 – летальных) [17, 23, 39, 40]. Случаи заболевания населения ЗНИ отмечены в Португалии, Италии, Венгрии, Румынии, а также на территории Ближнего Востока – в Израиле [17, 23].

В последние 20 лет заболеваемость ЗНИ отмечена в большинстве стран СНГ и южных регионах бывшего СССР (Арме-

ния, Туркмения, Таджикистан, Азербайджан, Казахстан, Молдавия, Украина, Беларусь и т.д.) [8–10]. В лесостепной и степной зонах Украины до 10% лихорадочных заболеваний людей в летне-осенний период вызваны ВЗН [10, 11].

В России в Волгоградской области в 2000г. крупной эпидемии среди людей (739 пострадавших с 40 летальными исходами) предшествовала массовая эпизоотия среди диких и домашних птиц. Ареал ВЗН охватывает практически всю европейскую часть России и Западной Сибири. В настоящее время в России эпидемиологическая обстановка по ЗНИ продолжает оставаться напряженной, неблагоприятная ситуация выявлена в 25 регионах [9, 10]. В целом за период 1997–2013 гг. в России зарегистрировано более 2500 случаев ЗНИ, при этом в 2013г. зарегистрированы новые случаи с летальными исходами [5].

Таким образом, в настоящее время в странах Европы и на сопредельных с Беларусью территориях происходит активизация природных очагов ЗНИ. Подобная картина наблюдается и в нашей республике. В Беларуси циркуляция ВЗН зарегистрирована на всей территории. О существовании стойких природных очагов ЗНИ свидетельствует многочисленное обнаружение антител у птиц (скворцы, трясогузки, мухоловки, сизоворонки, чибисы, голуби, серые вороны, певчие дрозды, а также домашние куры, индейки), диких и сельскохозяйственных животных (лошади, коровы, овцы), людей, а также выделение ВЗН из крови больного человека, от птиц, комаров. Во всех областях республики выявлены пациенты с ЗНИ [2, 7, 8].

Количество зарегистрированных случаев заболевания меняется из года в год, что зависит от различных факторов. Погода (например, температура и осадки), численность зоонозных хозяев и векторов передачи, а также поведение человека (например, использование репеллентов, активность мероприятий на свежем воздухе, использование кондиционеров или москитных сеток в доме) являются теми фак-

торами, которые могут повлиять на время и место возникновения вспышки заболевания. Данный экологический комплекс факторов затрудняет прогнозирование количества и места возникновения случаев заболевания.

Учитывая широкую распространенность и высокую заболеваемость ЗНИ в мире, включая Европу и сопредельные с Республикой Беларусь территории, **целью работы** явилось выяснение основных мероприятий по мониторинговому надзору за ЗНИ в европейском регионе с анализом эпидемической ситуации и собственными исследованиями в этой области в Беларуси.

Краткая характеристика вируса Западного Нила. ВЗН является РНК-оболочечным вирусом, относится к антигенному комплексу японского энцефалита (род *Flavivirus*, семейство *Flaviviridae*) и передается, в основном, комарами. ВЗН хорошо сохраняется в замороженном и высушенном состоянии, погибает при температуре выше 56°C в течение 30 мин, инактивируется эфиром и дезоксихолатом, обладает гемагглютинирующими свойствами. В соответствии с классификацией патогенных для человека микроорганизмов ВЗН относится ко II группе патогенности.

Структура ВЗН была изучена с помощью криоэлектронной микроскопии в 2003 г. [38], позволившей установить, что вирион имеет форму сферического икосаэдра раз-

мером в диаметре 50 нм с липидной оболочкой, окружающей нуклеокапсид, который состоит из белков капсида, связанных с РНК геномом (рисунок 1, 1а). Геном ВЗН – положительная односпиральная РНК длиной в 11000 нуклеотидов, состоит из короткого 5'-некодирующего региона, одной длинной рамки считывания, содержащей более 10000 нуклеотидов, и 3'-некодирующего региона переменной длины. Открытая рамка считывания из 3400 аминокислот кодирует три структурных белка в 5'-конце, которые составляют частицы вириона – капсид (С), премо-мембранные (prM) и оболочечные (Е) белки, с последующими семью неструктурными (NS) белками (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) в 3'-конце, необходимых для репликации вируса (рисунок 1, 1б) [45, 47].

Филогенетический анализ полных вирусных геномов позволяет выделить два основных различных генетических клона ВЗН (линия 1 и 2), дивергенция которых на уровне нуклеотидов варьирует до 29%. Вирусные штаммы, ответственные за вспышки в Европе, принадлежали, в основном, к линии 1 и имели очень близкое между собой генетическое сходство [15, 20, 27, 28, 33, 52]. Однако недавние вспышки среди людей на юге России (2007 и 2010 гг.) и в Греции (2010-2012 гг.) были вызваны вирусами генетической линии 2 [10, 15, 19, 26, 35, 39, 55, 59].

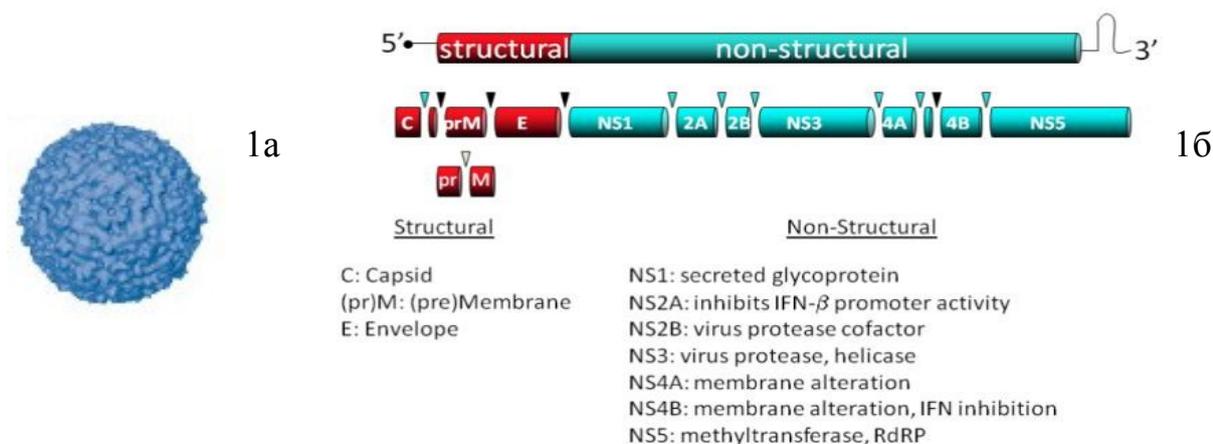


Рисунок 1 – Электронная микрофотография (1а) [38] и схема РНК-генома (1б) [45] вируса Западного Нила

В ряде исследований была проанализирована филогеография ВЗН, согласно которым было выяснено, что вирус происходит из Суб-Сахары в Африке, где он циркулирует в эндемичных очагах [15, 19, 42, 43, 56, 59]. Проникновение ВЗН из этой «колыбели» регулярно происходило в Западную Европу (через Магриб) и в Восточную Европу (через Ближний Восток). Различают две основные генетические линии (генотипы) происхождения: линия 1 (штаммы со всего мира) и линия 2 (штаммы из Африки и Европы) [19]. Линия 1 дополнительно подразделяется на 3 субклада: субклад 1a (основная ветвь линии 1) [42], субклад 1b (штаммы Кунжин из Ав-

стралии) и субклад 1c (штаммы из Индии). Некоторые исследователи предлагают разделить ВЗН, по меньшей мере, на семь предполагаемых генетических линий [37, 58].

Циркуляция вируса Западного Нила в Европе. ВЗН передается в цикле птица-комар-птица (рисунок 2), при этом птицы являются амплифицирующими хозяевами. Передача ВЗН происходит в период наибольшей активности кровососущих комаров (весной и осенью), но в связи с циклами амплификации в птицах случаи заболевания людей и лошадей, как правило, чаще наблюдаются в период с середины июля по октябрь, с пиком в сентябре.

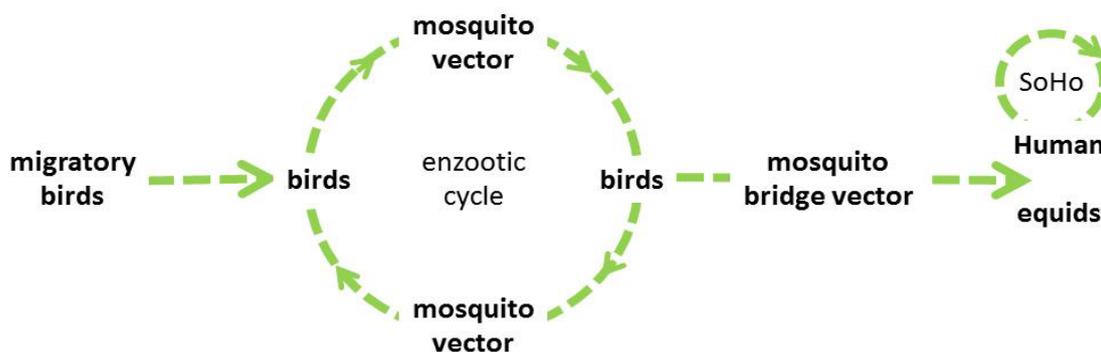


Рисунок 2 – Цикл передачи вируса Западного Нила в Европе [22]

Природные очаги ВЗН образуются (формируются) путем заноса возбудителя перелетными птицами из эндемичных территорий (Африки или Ближнего Востока), но, кроме того, эти очаги могут создаваться и при персистенции вируса в организме некоторых видов птиц. В циркуляцию вируса могут включаться дикие и домашние животные, например, лошади, у которых болезнь протекает тяжело, с картиной энцефаломиелита.

ВЗН циркулирует в бассейне Средиземного моря с 1960-х гг. Большинство случаев заболевания среди людей и/или лошадей были вызваны штаммами, принадлежащими к линии 1a, характеризующейся умеренной патогенностью для лошадей и людей и ограниченной или отсутствующей патогенностью для птиц [18, 20,

35, 49]. Однако, начиная с 2000-х гг., эпидемиологическая картина ЗНИ изменилась: с очень низкого уровня эндемичности без каких-либо смертельных случаев среди птиц до резкого увеличения смертельных случаев и высокой частоты неврологических случаев среди животных и людей. Кроме того, штаммы линии 2, до этого считавшиеся эндемичными на юге от Сахары, были недавно обнаружены в Центральной Европе (Венгрии [16, 20, 23], Австрии [25], Греции [23, 26, 39, 55, 59], Италии [21, 23]). Серьезная эпидемия ЗНИ произошла в 2010 г. в Центральной Македонии, Греции, которая была вызвана штаммом вируса линии 2 [26, 39]. В последнее время случаи заболевания людей регистрировались в Албании, Венгрии, Израиле, Италии, Македонии, на Пале-

стинской территории, Румынии, Российской Федерации, Сербии, Испании, Украины, Туниса, Турции и Греции [10, 11, 15, 20, 23, 29, 40, 51]. В большинстве европейских стран разработаны системы эпидемиологического надзора, что привело к улучшению диагностики ЗНИ. Однако до сих пор вспышки возникают непредсказуемо во времени и пространстве.

Основными переносчиками (векторами) ВЗН являются комары, которые инфицируются, питаясь кровью от зараженной вирусом птицы. После попадания через стенки кишечника в гемолимфу вирус реплицируется в большинстве внутренних тканей и в конечном итоге поступает в слюнные железы. Этот внешний инкубационный период в комарах длится 10–14 дней в зависимости от температуры. После заражения комары остаются инфицированными в течение всего периода своей жизни и потенциально способны передавать вирус каждому позвоночному, на котором они кормятся. Среди более 15 видов потенциальных векторов, существующих в европейской фауне комаров, основными векторами ВЗН в Европе являются комары рода *Culex*, особенно видов *Culex pipiens* и *Culex modestus*. *Culex modestus* является важным вектором в дельтовых и других водно-болотных экосистемах, и именно этот вектор был ответственным за вспышку ВЗН в 1962 г. на юге Франции. *Culex pipiens* является довольно распространенным видом и основным вектором передачи инфекции, что выявлено в ходе эпидемиологического расследования недавних вспышек [3, 9, 18, 22, 41].

Некоторыми исследователями было показано, что ВЗН может адаптироваться к местным видам аргасовых и иксодовых клещей, участвующих в сохранении вирусной популяции в межэпизоотический период [3, 9, 18, 22, 41].

Основными хозяевами-резервуарами (амплификаторами) вируса являются птицы, в основном, водно-околоводного комплексов, чем и объясняется широкое рас-

пространение вируса в природе. Вирус был выделен от более 150 видов домашних и диких птиц по всему миру. Наиболее оптимальным резервуаром для вируса являются виды воробьиных, в первую очередь врановые, у которых вирус выявляется в высоких титрах. В Европе вирус был выделен от некоторых видов диких наземных и водных птиц (голуби, вороны, цапли, чайки др.) [16, 17, 22, 27, 53].

Способностью ВЗН вызывать длительную и выраженную виремию у некоторых видов птиц можно объяснить возможность распространения его во время миграций птиц в новые районы. Птицы также могут выделять вирусы в высоких титрах с оральными и клоакальными выделениями, что доказывает возможность передачи вируса от птицы к птице при совместном кормлении. В Европе инфекция птиц, как правило, протекает бессимптомно, вероятно, это отражает долгую совместную эволюцию вируса и хозяина в Старом Свете. В отличие от США, где наблюдалась высокая смертность диких птиц, вызванная ВЗН, одновременно со вспышками заболеваний среди людей, этого не наблюдалось во время вспышек среди людей в Европе [34, 44, 48, 58].

Клинические проявления Западно-Нильской инфекции у людей. Восприимчивость человека к ВЗН высока, хотя, по видимому, преобладает бессимптомное инфицирование или легкие лихорадочные формы болезни. Согласно последним литературным данным, 20–30% инфицированных людей имеют симптомы от гриппоподобных до нейроинвазивных заболеваний (менингит, энцефалит или острый паралич), которые в некоторых случаях заканчиваются серьезным осложнением или даже летальным исходом с показателями 3–17% [45, 53, 54].

Инкубационный период у человека, как правило, составляет 3–8 дней и в большинстве случаев протекает бессимптомно. Виремия происходит в течение 1–3 дней, но может длиться до 11 дней. В 15–20%

случаев протекает как легкое гриппоподобное заболевание. Эти симптомы могут длиться 2–5 дней. В 25–50% случаев может также наблюдаться сыпь, как правило, макулопапулезная, что менее вероятно при нейроинвазивных заболеваниях. Менее чем в 1% случаев развиваются неврологические заболевания, такие как менингит, менингоэнцефалит, острый вялый паралич или смешанные формы заболевания. Выздоровление после нейроинвазивной ЗНИ может быть медленным, и впоследствии долгосрочно сохраняются осложнения в виде слабости, миалгии и усталости [22, 32, 36]. Летальность составляет около 10% и, как правило, связана со старшими возрастными группами или сопутствующими заболеваниями. Во время вспышек за последние 20 лет летальность среди госпитализированных пациентов при нейроинвазивной ЗНИ варьировала от 4% в Румынии (1996), 12% в Нью-Йорке (1999) и 14% в Израиле (2000) до 17% случаев в Греции (2010) [22, 39, 40]. По сравнению со взрослыми, дети, инфицированные ВЗН, болеют более короткий срок и с меньшей частотой неврологических симптомов. У них наблюдаются чаще менингитные симптомы, чем энцефалитные, отмечаются лучшие неврологические исходы и более низкая летальность [22, 50].

Передача ВЗН человеку происходит, в основном, через укус инфицированных комаров. Однако передача также возможна через кровь и ее компоненты, ткани и клетки, а также при трансплантации органов. Случаи заражения таким путем были зарегистрированы в США и Европе [1, 22]. В США было сообщено о единичном случае вертикальной трансплацентарной передачи вируса от матери ребенку, в другом случае – грудное вскармливание считалось вероятным путем передачи инфекции младенцу. Были зарегистрированы случаи профессионального инфицирования ВЗН: у энтомологов во Франции при сборе комаров для наблюдения; у студента-ветеринара в ЮАР в 2009 г. после выполнения вскрытия пони и два лаборатор-

ных инфицирования в США в 2002 г. после случайного подкожного прокола [22].

Клинические проявления Западно-Нильской инфекции у лошадей. Лошади также инфицируются через укус зараженных комаров. Часто эпизоотии лошадей предшествуют случаям заболевания у людей. У лошадей заболевание обычно протекает бессимптомно и лишь у небольшого процента заболевших (около 10%) могут проявиться неврологические симптомы: в основном, поражается ЦНС и наблюдаются полиэнцефаломиелиты, а в наиболее тяжелых случаях – дегенерация нейронов [4, 14, 32, 34, 36]. Симптомы могут варьировать от умеренной атаксии до полной неподвижности. У некоторых лошадей наблюдается слабость, мышечная фасцикуляция, дисметрия, сонливость, поражение краниальных нервов или чрезмерная возбудимость. Лихорадка не всегда считается симптомом данного заболевания у лошадей [4, 14, 22].

Инкубационный период у лошадей длится 3–15 дней, а выздоровление наступает в течение 5–21 дня. Смертность среди лошадей с неврологическими симптомами может достигать 38–57,1%. Поскольку лошади не являются «усиливающими» хозяевами, вирулентность у них низкая и проходящая [4, 14, 22].

В странах ЕС за последние десять лет вспышки ЗНИ среди лошадей были зарегистрированы в Италии, Франции и Испании, в основном, без одновременных случаев заболевания среди людей [17, 22]. Однако некоторые вспышки среди лошадей во Франции (2003) и Италии (2009) сопровождалась вспышками заболевания среди людей [34].

Экологические факторы, влияющие на динамику передачи вируса Западного Нила. На возникновение инфекции, вызываемой ВЗН, влияет множество экологических факторов. ВЗН часто ассоциирован с дельтами рек и другими водно-болотными угодьями, которые служат местом гнездования многих перелетных птиц и местом размножения орнитофильных комаров.

Кроме природных мест обитания векторов, существует целый ряд антропогенных мест их размножения в сельских и городских районах. К ним относятся застойная и часто грязная вода в ведрах, бочках и канистрах, водостоках, выброшенных шинах и других контейнерах, в которых может собираться вода. В городских условиях местами размножения и обитания переносчиков (комаров) могут служить канализационные трубы и затапливаемые подвалы и др., как это было во время вспышек в Румынии [12, 22].

В ряде ситуаций одним из важных экологических факторов, влияющих на активность ВЗН, является температура внешней среды, которая влияет на размножение комаров и внешнюю инкубацию ВЗН [5,

22]. Развитие личинок комаров вида *Culex pipiens* начинается при 12°C, а оптимальной температурой для них является 25–30°C. Передача возбудителя от комаров непосредственно связана с температурой воздуха в течении его внешней инкубации, а оптимальная температура для внешнего инкубационного периода зависит от вида комаров [22]. Механизм влияния температуры воздуха затрагивает экологию переносчиков и, вероятно, определяется скоростью накопления ВЗН в комарах [5].

Диагностика Западно-Нильской инфекции у человека и животных. Диагностика осуществляется серологическими или прямыми методами детекции вируса. Соответствующие образцы и диагностические тесты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Лабораторные тесты, используемые для диагностики и надзора за Западно-Нильской инфекцией у человека и животных (лошади, птицы и комары)

Образец / метод	Люди	Лошади	Птицы	Комары
образец	сыворотка, плазма, СМЖ	сыворотка и ткань	сыворотка, ткань и оральные мазки	пулы
непрямая детекция	иммуноферментный анализ ELISA (IgM, IgG, авидность IgG) реакция иммунофлуоресценции (РИФ) реакция нейтрализации (РН)	иммуноферментный анализ ELISA (IgM, IgG) реакция нейтрализации (РН)	домашние птицы: ELISA (IgM, IgG); дикие птицы: конкурентный ELISA или непрямой ELISA реакция нейтрализации (РН)	
прямая детекция вируса	ОТ-ПЦР выделение на культуре клеток иммуногистохимия	ОТ-ПЦР выделение на культуре клеток иммуногистохимия	быстрая иммунохроматография ОТ-ПЦР выделение на культуре клеток	быстрая иммунохроматография ОТ-ПЦР выделение на культуре клеток

У пациентов с ЗНИ специфические IgM почти всегда обнаруживаются в сыворотке крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) при наступлении неврологических симптомов. У пациентов с ненейроинвазивной ЗНИ IgM всегда обнаруживается на 8-й день. Поскольку в сыворотке крови IgM могут быть обнаружены до 12 месяцев после заражения, положительные анти-

ВЗН IgM или тесты авидности IgG могут помочь различить острые и ранее перенесенные инфекции. Кроме того, при серологическом тестировании на антитела ВЗН может проявляться перекрестное реагирование с другими групповыми антигенами флавивирусов. В этой связи выявление вируснейтрализующих антител в реакции нейтрализации (РН) в сыворотке крови и

СМЖ повышает специфичность постановки диагноза.

ВЗН также может быть выявлен в СМЖ, сыворотке и плазме крови, моче или ткани посредством выделения вируса методами полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) или реакции иммунофлуоресценции (РИФ); или методами амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Обнаружение вируса в сыворотке может быть затруднено из-за короткой продолжительности виремии. Наконец, иммуногистохимическое окрашивание может быть использовано для обнаружения ВЗН в ткани головного мозга, экстрагированной при аутопсии (вскрытии).

Для определения *подтвержденного случая по стандартам ЕС* требуется наличие хотя бы одного из следующих 4-х лабораторных критериев:

- выделение ВЗН из крови или спинномозговой жидкости;
- детекция нуклеиновых кислот ВЗН в крови или СМЖ;
- специфические антитела (IgM) к ВЗН в СМЖ;
- высокий титр IgM к ВЗН, детекция IgG к ВЗН и подтверждение реакцией нейтрализации (все вместе).

Обнаружение специфических антител к вирусу Западного Нила в сыворотке крови в дополнение к клиническим симптомам или наличие эпидемиологической связи классифицируется как вероятный случай.

Для диагностики инфекции *у птиц и лошадей* подходят как серологические, так и прямые методы детекции. У птиц различных видов для быстрого скрининга может быть использован иммуноферментный анализ ELISA (таблица 1) с последующим подтверждением в РН. Образцы тканей (головного или спинного мозга) лошадей от смертельных случаев могут быть проверены методами молекулярного анализа, и в случае положительного результата вирус можно размножить в культуре клеток. Также используют тесты быстрого обнаруже-

ния антигена (экспресс-тесты иммунной хроматографии).

Пулы комаров могут быть проверены с использованием коммерческих экспресс-тестов для обнаружения антигена. Подходит молекулярная детекция вируса методом ОТ-ПЦР в пулах комаров, что позволяет секвенировать и типировать вирус (таблица 1).

Эпидемическая ситуация по Западно-Нильской инфекции в Европе. Серологические исследования показали, что циркуляция ВЗН в Европе происходит с 50-х годов, когда антитела к вирусу были обнаружены в крови жителей Албании. Однако до недавнего времени вспышки инфекции среди людей были относительно редкими. Первая распознанная вспышка среди людей произошла в 1962–1963 гг. на французском побережье Средиземного моря в Камарге. В последующие годы ВЗН был выделен от людей, комаров и клещей [2, 6-9, 22, 27]. В течение последних 20 лет зарегистрирован ряд вспышек среди людей в Южной Европе и бассейне Средиземного моря в таких странах, как Алжир, Чехия, Франция, Греция, Венгрия, Израиль, Италия, Португалия, Румыния, Сербия, Испания и Тунис. За последние 4 года подряд вспышки зарегистрированы в Греции, Румынии, Италии и Венгрии [17, 22, 23].

В трех регионах Российской Федерации – Волгоградская, Астраханская, и Ростовская области – регистрируются случаи ЗНИ. За период 1999–2010 гг. было зарегистрировано 928 случаев заболевания людей в Волгоградской области, 322 – в Астраханской, и 40 – в Ростовской. Пик эпидемической активности был зарегистрирован в Волгоградской обл. в 1999 г. (380 случаев) и в 2010 г. (413 случаев) [10, 41].

В лесостепной и степной зонах Украины до 10% лихорадочных заболеваний людей в летне-осенний период вызваны ВЗН [11, 51].

ЗНИ является эндемическим заболеванием для юго-восточной части Европы и регистрируемой нозоформой на уровне Европейского союза (ЕС). В 2012 г. было за-

регистрировано 238 случаев ЗНИ в странах ЕС и Европейской экономической зоны (ЕЭЗ), при этом в Болгарии зарегистриро-

ваны местные случаи впервые с 2008 г. (таблица 2) [17, 23].

Таблица 2 – Количество зарегистрированных случаев и показатель заболеваемости Западно-Нильской инфекцией среди людей в некоторых странах Европейского союза, 2008–2012 гг.

Страна	2012		2011		2010		2009		2008	
	п	г	п	г	п	г	п	г	п	г
Болгария	4	0,06	–	–	–	–	–	–	–	–
Венгрия	17	0,17	4	0,04	19	0,19	7	0,07	19	0,19
Греция	162	1,46	100	0,9	262	2,34	0	0,00	0	0,00
Италия	28	0,05	14	0,02	5	0,01	18	0,03	3	0,01
Румыния	15	0,08	11	0,06	57	0,028	2	0,01	2	0,01
Франция	3	–	1	–	3	–	1	–	–	–
Хорватия	6	0,14	–	–	–	–	–	–	–	–
Всего в странах ЕС и ЕЭЗ	238	0,07	132	0,04	349	0,11	28	0,01	14	0,01

Примечание – п – число зарегистрированных случаев; г – показатель на 100 тыс. населения; – нет данных

Из таблицы 2 видно, что в странах, где ранее регистрировались случаи ЗНИ, их число возросло в 2012 г. по сравнению с 2011 г.

В 2013 г. число случаев вновь возросло в ранее пострадавших странах, за исключением Греции. Кроме того, реали-

зация скрининга донорской крови позволила обнаружить положительных доноров крови в Италии и Греции в 2013 г. В 2014 г. случаи ЗНИ продолжали регистрироваться в странах ЕС и соседних европейских странах (таблица 3) [17, 23].

Таблица 3 – Число зарегистрированных случаев ЗНИ в некоторых странах Европы в 2013–2014 гг.

Страна	2014 г.	2013 г.
Венгрия	11	36
Греция	15	86
Италия	24	79
Румыния	23	24
Франция	–	1
Хорватия	–	16
Всего в странах ЕС	74	228
Босния и Герцеговина	13	3
Израиль	17	63
Россия	29	177
Сербия	76	302
Украина	–	1

Система надзора за ЗНИ в европейском регионе. Эффективность надзора за ЗНИ заключается в его комплексном подходе на глобальном, национальном и

местном уровнях, включая надзор за состоянием здоровья людей, животных и эпидемиологический надзор. Весьма существенным является регулярное общение и

обмен информацией между различными секторами.

Проблема заключается в том, что в разных странах существует свое законодательство в области общественного здравоохранения и ветеринарных служб и сравнительная интерпретация данных по ВЗН из разных стран затруднена.

Системы надзора с разработанной инфраструктурой по сбору и анализу данных комплексного мониторинга по ВЗН (от людей и животных) на основе регулярного финансирования функционируют только в рамках проекта EpiSouth Network (<http://www.episouthnetwork.org/>). Эта сеть создана между странами Средиземноморья (Юго-Восточной Европы, Северной Африки и Ближнего Востока) и является основой сотрудничества по эпидемиологическим вопросам для усиления эпиднадзора заболеваний и контроля рисков для здоровья населения посредством общения, обучения, обмена информацией и технической поддержки стран в Средиземноморском регионе. Из юго-восточных ев-

ропейских стран в данном проекте участвуют Албания, Босния и Герцеговина, Болгария, Греция, Испания, Италия, Кипр, Румыния, Сербия, Словения, Франция, Хорватия, Черногория.

Следует отметить, что аналогичная система надзора ArboNET (http://disease-maps.usgs.gov/wnv_us_human.html) создана Центром контроля болезней (CDC) и в США, где с 1999 г. ежегодно регистрируется вспышечная заболеваемость ЗНИ.

Для анализа данных по вспышкам, вызванным ВЗН в европейских странах и координации ответных мер экспертами Европейского центра контроля и профилактики болезней (ECDC) в 2013 г., был разработан специальный документ «Методическое руководство по оценке риска, связанного с вирусом Западного Нила», согласно которому определена оценка уровней рисков передачи инфекции для человека с учетом географических зон риска и показателей целого ряда различных систем надзора за ЗНИ в странах-членах ЕС (таблица 4) [22].

Таблица 4 – Уровни риска передачи ВЗН для человека с соответствующей зоной риска и используемыми показателями его определения

Соответствующая зона риска	Уровень риска	Показатели
свободная от риска	0	исторически не выявлена циркуляция ВЗН
предрасположенная к риску	1	экологические условия, подходящие для циркуляции ВЗН, но исторически циркуляция ВЗН не выявлена
зона риска	2	есть данные о циркуляции ВЗН в прошлом
	3а	есть данные о циркуляции ВЗН в комарах и птицах во втором периоде текущего сезона (август-сентябрь-октябрь)
	3б	есть данные о циркуляции ВЗН в комарах и птицах в первый период текущего сезона (май-июнь-июль)
	4	выявлен специфический IgM к ВЗН у местных невакцинированных лошадей(и) или ВЗН выделен от местной лошади
пораженная зона	5	выявлен хотя бы один случай среди людей в соответствии с подтвержденным случаем по стандартам ЕС (см. выше)

Принятая система надзора меняется в зависимости от активности ВЗН и его резервуаров. В данном руководстве конкретно рассматриваются следующие два вопроса: как относить географические районы к различным зонам риска передачи ВЗН для человека и когда нужно предупреждать о потенциальном заражении людей с учетом показателей из различных систем надзора? Важно отметить, что оценка риска представляет собой также непрерывный процесс. Ситуация по ВЗН меняется каждый год в Европе и будет изменяться дальше в ближайшие годы. Поэтому существует необходимость пересмотра рисков на регулярной основе в свете новых данных по экологии ВЗН в Европе по мере их появления [22].

В России особое внимание уделено вспышкам ЗНИ, возникшим на ее территории, только в последние 2 десятилетия, и в этой связи проводятся интенсивные мониторинговые исследования по надзору за природными очагами согласно нормативным документам, разработанными Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (Роспотребнадзор). На основании полученных вирусологических, серологических и молекулярно-биологических исследований разрабатывается комплекс мероприятий по контролю за данной инфекцией [9, 10].

Что касается надзора в Украине за циркуляцией ВЗН, выявленной еще в 1970-х гг., то до сих пор единая система надзора за этой инфекцией не разработана, в то время как высокая активность природных очагов выявлена на юге Украины с помощью молекулярно-биологических и серологических методов лабораторной диагностики [11, 51].

Мониторинговый надзор за циркуляцией вируса Западного Нила в Беларуси. Начало работам по ВЗН в Беларуси положили исследования Д. К. Львова и соавт. в 1967 г., в результате которых были выявлены антитела у жителей Беловежской Пуши к антигенам Западно-Нильской

инфекции и японского энцефалита [6]. В дальнейшем в 1970-х гг. исследования были продолжены сотрудниками Белорусского НИИ эпидемиологии и микробиологии (ныне – РНПЦ эпидемиологии и микробиологии) под руководством академика В. И. Вотякова и получены серологические доказательства циркуляции ВЗН в республике. При этом было исследовано в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) 870 сывороток крови, из них 200 – от человека, 346 – мышевидных грызунов, 324 – птиц. Установлено, что наиболее часто антигемагглютинины к ВЗН встречались у мышевидных грызунов ($5,1 \pm 1,9\%$). В районе озера Червоное Гомельской обл. антигемагглютинины найдены у шести рыжих полевок и одной желторотой мыши в титрах от 1:20 до 1:80. Здесь же установлена значительная иммунная прослойка у птиц различных систематических и экологических групп ($4,0 \pm 1,4\%$). Иммунная прослойка людей несколько меньше ($1,5 \pm 0,9\%$ обследованных) [7, 46].

Первым штаммом ВЗН, выделенным в Беларуси, явился штамм «48-ЗН-Тремля», названный по наименованию местности (рыбхоз Тремля Петриковского района Гомельской обл.), где он был изолирован из внутренних органов скворцов в апреле 1985 г. [7, 46]. Позже вирус был выделен от кровососущих комаров рода *Aedes* (штаммы 319 и 2438) и из крови лихорадящего больного (штамм Вин.), проживающего на территории Беловежской пуши. Выявлена идентичность полученных изолятов между собой и установлена их близкородственная связь с эталонным штаммом вируса Eg-101, являющимся топотипным для африканской группы вирусов. Тем самым показано, что на территории Республики Беларусь циркулирует популяция ВЗН, близкородственная африканскому варианту. Обширными иммуносерологическими исследованиями, проводимыми в период 1980–1999 гг., установлено наличие специфических антител к вирусу в крови людей ($1,7–15,4\%$), крупного рогатого скота ($0,6–5,8\%$), мелких диких млеко-

питающих (2,9–6,8%) и птиц (6,5–16,7%). Это указывает на наличие условий распространения вируса на всей территории Беларуси. Присутствие антигена ВЗН выявлено в комарах родов *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, мошках рода *Boopthora* и клещах *I. ricinus*. Однако основную роль в циркуляции ВЗН, по нашему мнению, в природных очагах на территории Беларуси играют кровососущие комары, а также птицы, от которых выделены штаммы ВЗН. Кроме того, в комарах синантропных видов рода *Culex*, собранных на территории Гомельской области, и рода *Anopheles* (Минская область) выявляется антиген ВЗН (22,2 и 18,2% соответственно) [7, 8, 46].

В процессе исследований по обнаружению антител к ВЗН у людей мы наблюдали случаи, при которых антитела с 4-кратным нарастанием титров выявлялись у больных с различными диагнозами: ОРВИ, ОРЗ, острый бронхит, пневмония неясной этиологии и др. Было обращено внимание на острые лихорадочные заболевания, возникающие в весенне-летний сезон. Они начинались, как правило, остро, температура повышалась до 40°C. Все это сопровождалось сильной головной и мышечной болью, ознобом, отмечалось увеличение шейных и затылочных лимфатических узлов, у 20–50% больных регистрировалась сыпь, у части больных наблюдалась боль в горле, диарея, потеря аппетита и рвота. Инкубационный период составлял 2–6 дней. У части больных имели место серьезные менингиты неясной этиологии. Через несколько дней лихорадка проходила, и наступало выздоровление. В таких случаях, как правило, ставился диагноз ОРВИ, хотя результаты исследования парных сывороток от таких больных на грипп, парагрипп и аденовирусы были отрицательными и положительными лишь с антигеном ВЗН. Выявлено более 20-ти серологически подтвержденных (4-кратное нарастание титров специфических антител к вирусу в парных сыворотках) случаев ЗНИ среди лихорадящих больных неясной этиологии в эпидемический сезон [7, 8, 46].

Не вызывает сомнений, что в Беларуси наблюдается гиподиагностика ЗНИ, которая проходит под другими диагнозами (ОРВИ, лихорадки, менингиты, менингоэнцефалиты неясной этиологии и др.). Сложившаяся ситуация связана с отсутствием настороженности и информированности врачей в отношении данного заболевания, недостаточно отлаженной диагностикой и системой мониторинга циркуляции ВЗН в стране и др.

В настоящее время в связи с активизацией циркуляции ВЗН в соседних странах и необходимостью недопущения чрезвычайной эпидситуации в Беларуси в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии разрабатываются тест-системы для диагностики ЗНИ. Так, создана и прошла государственную регистрацию «Диагностическая тест-система для определения антител класса М и G к вирусу Западного Нила непрямым методом флуоресцирующих антител». Разработана и внедряется в практическое здравоохранение тест-система для выявления IgM и IgG в сыворотках крови людей и переносчиках. Создается тест-система для выявления антигена ВЗН в переносчиках и клиническом материале.

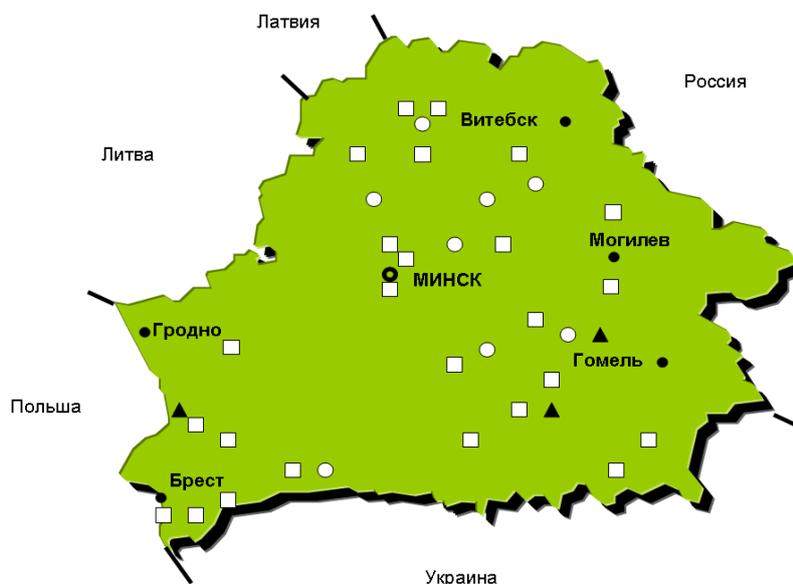
На основании проведенных исследований (выделение ВЗН, выявление антител к нему и обнаружение антигена) была составлена карта-схема распространения ВЗН в Беларуси, из которой видно, что вирус встречается на всей территории республики, особенно в южной ЛКЗ (рисунок 3).

В последние годы эпиднадзор за Западно-Нильской инфекцией в Беларуси осуществляется в рамках научно-исследовательских работ, что явно недостаточно для выявления реальной картины эпидситуации по данной инфекции в республике.

Так, например, при исследовании методом ИФА биопроб от кровососущих комаров родов *Aedes* (41,9%), *Anopheles* (32,3%), *Culex* (25,8%) и мошек сем. *Simuliidae*, собранных в 2011–2013 гг., показано, что антиген ВЗН выявлялся на территории всех областей (рисунок 4).

Как видно из рисунка 4, процент выявления положительных биопроб в 2013 г. был выше, чем в 2011 и 2012 гг. в Витебской, Могилевской, Гродненской и Брестской областях. Наибольшая динамика выявления антигена отмечена в Витебской (с 7,1% в 2011 г. до 16,7% в 2013 г.) и Могилевской (с 13,1% в 2011 г. до 23,1% в 2013 г.) областях. Наименьшая динамика роста отмечена в Гродненской области: с 12,5% в 2011 г. до 14,3% в 2013 г. Процент выявления положительных биопроб в Го-

мельской области в 2012 и 2013 гг. оставался на одном уровне (25%), но вырос по сравнению с 2011 г. – 16,7%. Что касается Минской области, то выявление антигена ВЗН в 2012 г. (15,0%) возросло по сравнению с 2011 (10,3%), однако в 2013 г. произошло снижение процента положительных биопроб до 9,7%. Выявление антигена ВЗН в кровососущих комарах на территории всей республики увеличилось с 12,8% в 2011 г. до 17,9% в 2013 г. [2, 8].



Условные обозначения: ▲ - выделение вируса ЗН; ○ - обнаружение антигена вируса ЗН; □ - выявление антител к вирусу ЗН

Рисунок 3 – Распространение вируса Западного Нила на территории Беларуси, 1980-1999 гг.

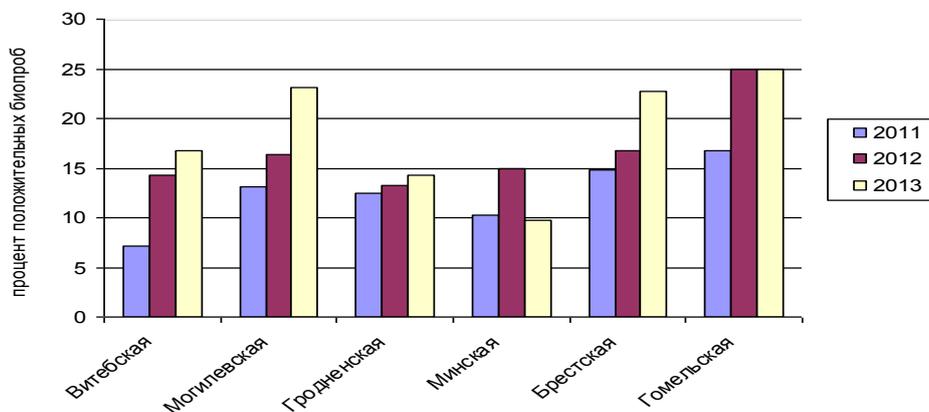


Рисунок 4 – Выявление антигена вируса Западного Нила в кровососущих комарах по областям Республики Беларусь по годам

Если рассматривать зараженность комаров по родам, то наибольший процент содержания антигена вируса отмечен у комаров р. *Anopheles* – 24,1% (34 положительных биопробы из 141 исследованных).

Процент положительных биопроб кровососущих комаров р. *Aedes* составил 8,7% (16 из 183), а р. *Culex* – 15,0 % (17 из 113) (рисунок 5).

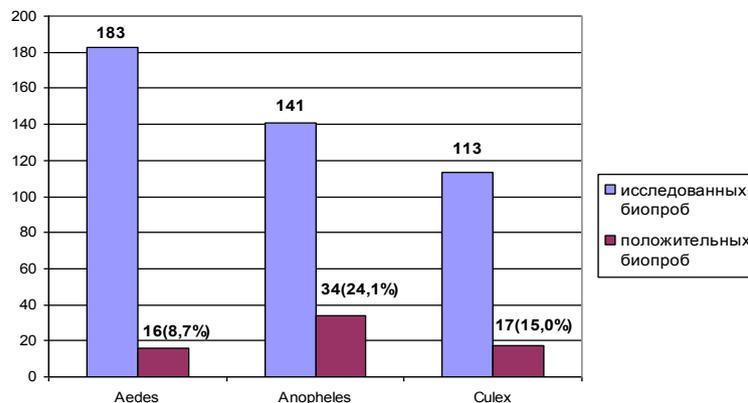


Рисунок 5 – Выявление антигена вируса Западного Нила в биопробах кровососущих комаров по родам (2011–2013 гг.)

Проведенные исследования кровососущих комаров и мошек показали, что отмечается рост зараженности кровососущих комаров, собранных в 2013 г. по сравнению с зараженностью переносчиков, собранных в 2011 г. в целом по республике и на территории большинства областей. Антиген ВЗН обнаруживается у кровососущих комаров всех трех исследуемых родов (*Aedes*, *Anopheles* и *Culex*) и мошек.

Учитывая, что синантропные и полусинантропные роды комаров *Anopheles* и *Culex* обитают поблизости с жильем человека и постоянно соприкасаются с ним, инфицированные ВЗН переносчики создают угрозу заражения людей этим возбудителем.

Таким образом, Беларусь можно отнести к зоне риска передачи ВЗН для человека уровня 3b в соответствии с методическим руководством экспертов Европейского центра контроля и профилактики болезней, т.е. получены данные о циркуляции ВЗН в комарах и птицах в первый период текущего сезона (май-июнь-июль) (таблица 4). Это должно вызвать настороженность со стороны органов здравоохра-

нения и ветеринарной службы республики для усиления мероприятий по эпидемиологическому надзору за ЗНИ, включая совместные профилактические мероприятия и проведение дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1 Расширение географического распространения ВЗН в Европе и остальном мире, увеличение числа вспышек заболевания среди людей, появление штаммов с повышенной вирулентностью, а также ограничения современных диагностических тестов по выявлению новых и вновь возникающих геновариантов ВЗН вызывает озабоченность органов здравоохранения всех стран мира. В настоящее время для стран-членов ЕС разработано специальное методическое руководство, согласно которому определена оценка уровней рисков передачи инфекции для человека с учетом географических зон риска и показателей целого ряда различных систем надзора за ЗНИ.

2 Продолжающаяся непредсказуемость и быстрое развитие эпидемии требует своевременного надзора за ЗНИ и ответного реагирования на национальных уровнях в масштабе всей Европы, который дол-

жен включать в себя ветеринарный и энтомологический надзор, а также молекулярно-биологическое изучение выделенных штаммов.

3 Учитывая, что Республика Беларусь относится к зоне риска передачи ВЗН человеку и расположена в центре Европы, через которую проходят высокие миграционные потоки людей и миграционные перелеты птиц, с учетом опыта соседних стран и, особенно, стран ЕС, назрела необходимость поэтапной разработки системы надзора данной инфекции, а именно:

- внедрить в практику здравоохранения и ветеринарной службы разработанные отечественные диагностические тест-системы на основе ИФА и НМФА и разра-

батываемую ПЦР тест-систему;

- внести учет заболеваемости в официальные статистические формы;

- оценить распространенность заболевания среди людей и животных (в первую очередь, среди лошадей);

- организовать обучение отечественных специалистов на базе РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, в профильных учреждениях Российской Федерации или странах ЕС;

- определить национальный референс-центр по данному заболеванию с целью координации и согласованности возможных дальнейших действий по контролю ЗНИ в европейском регионе.

ЛИТЕРАТУРА

1 *Возможность заражения человека природно-очаговыми инфекциями при трансфузиях крови / И. А. Азарова [и др.] // Актуальные вопросы развития безвозмездного донорства крови : сб. материалов 1-го Евраз. конгр. – Минск, 2014. – С. 46–48.*

2 *Инфицированность кровососущих комаров и мошек вирусом Западного Нила на территории Республики Беларусь в 2011–2013 гг. / А. А. Соглаева [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохр. Респ. Беларусь ; РНПЦ эпидемиологии и микробиологии ; под ред. проф. Л. П. Титова. – Минск: ГУ РНМБ, 2014. – Вып. 7. – С. 95–98.*

3 *Комплекс кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) в очаге лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. Особенности питания комаров в разных биотопах / М. В. Федорова [и др.] // Мед. паразитол. паразитар. болезни – 2007. – № 2. – С. 49–53.*

4 *Лихорадка Западного Нила у лошадей / С. В. Борисевич [и др.] // Арбовирусы и арбовирусные инфекции: материалы расшир. пленума пробл. комиссии «Арбовирусы» и науч.-практ. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17–20 окт. 2006 г. – М., 2007. – С. 175–179.*

5 *Оценка динамики эпидемических проявлений лихорадки Западного Нила в Волгоградской области в зависимости от климатических условий, предшествующих началу эпидемического сезона / В.А. Сафронов [и др.] // Вопр. вирусологии. – 2014. – Т. 59, № 6. – С. 42–46.*

6 *Результаты серологической разведки на арбовирусы в Беловежской пуще (Белорусская ССР) / Д. К. Львов [и др.] // Арбовирусы: материалы пробл. комиссии АМН СССР «Полиомиелит и вирусные энцефалиты». – М., 1967. – Вып. 2. – С. 90–91.*

7 *Самойлова, Т. И. Арбовирусы в Республике Беларусь (полевые и экспериментальные исследования): автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 03.00.06, 14.00.30 / Т. И. Самойлова; НИИ эпидемиологии и микробиологии. – Минск: 2003. – 41 с.*

8 *Сергиев, В. П. Новые и возвращающиеся переносчики вирусных лихорадок – угроза эпидемических осложнений на юге Европы и России / В. П. Сергиев, Л. А. Ганнушкина, Н. Н. Филатов // Журн. микробиол. – 2011. – № 4. – С. 97–100.*

9 *Самойлова, Т. И. Эпидемиологическая ситуация по арбовирусным инфекциям в Республике Беларусь / Т. И. Самойлова // Здравоохранение. – 2014. – № 12. – С. 13–19.*

10 *Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в России в 2010 г. / Г. Г. Онищенко [и др.] // Журн. микробиол. – 2011. – № 3. – С. 115–120.*

11 *Юрченко, О. А. Лихорадка Западного Нила на юге Украины / О. А. Юрченко, Д. А. Дубина, Н. А. Виноград // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. ст. / М-во здравоохр. Респ. Беларусь ; РНПЦ эпидемиологии и микробиологии ; под ред. проф. Л. П. Титова. –*

Минск : ГУ РНМБ. – Вып. 7. – С. 114–118.

12 Analysis of surveillance systems in place in European Mediterranean countries for West Nile virus (WNV) and Rift Valley fever (RVF) / F. Cito [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2013. – Vol. 60, suppl 2. – P. 40–44.

13 A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda / K. C. Smithburn [et al.] // *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* – 1940. – Vol. 20. – P. 471–492.

14 Castillo-Olivares, J. West Nile virus infection of horses / J. Castillo-Olivares, J. Wood // *Vet. Res.* 2004. – Vol. 35. – P. 467–483.

15 Chevalier, V. Predictive modeling of West Nile virus transmission risk in the Mediterranean Basin: how far from landing? / V. Chevalier, A. Tran, B. Durand // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2013. – Vol. 11, N 1. – P. 67–90.

16 Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary / K. Erdélyi [et al.] // *Vector Borne Zoonotic Dis.* – 2007. – Vol. 7, N 2. – P. 181–188.

17 EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013* // *EFSA J.* – 2015. – Vol. 13, N 1. – P. 113–118.

18 Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes / H. M. Savage [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1999. – Vol. 61. – P. 600–611.

19 Epidemiological history and phylogeography of West Nile virus lineage 2 / M. Ciccozzi [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2013. – Vol. 17. – P. 46–50.

20 Epidemiology of West Nile in Europe and in the Mediterranean basin / P. Calistri [et al.] // *Open Virol. J.* – 2010. – Vol. 4. – P. 29–37.

21 Evidence of West Nile virus lineage 2 circulation in northern Italy / G. Savini [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2012. – Vol. 158. – P. 267–273.

22 European Centre for Disease Prevention and Control. *West Nile virus risk assessment tool : ECDC technical report.* – Stockholm : ECDC, 2013. – 24 p.

23 European Centre for Disease Prevention and Control. *Annual epidemiological report 2014 – Emerging and vector-borne diseases : ECDC surveillance report.* – Stockholm : ECDC, 2014. – P. 45–50.

24 Experimental infection of horses with West Nile virus / M. L. Bunning [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2002. – Vol. 8, N 4. – P. 380–386.

25 Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009 / T. Bakonyi [et al.] // *Vet. Microbiol.* 2013. – Vol. 165, N 1–2. – P. 61–70.

26 Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010 / A. Papa [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 17. – P. 920–922.

27 Hubalek, Z. West Nile fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe / Z. Hubalek, J. Halouzka // *Emerg. Infect. Dis.* – 1999. – N 5. – P. 643–650.

28 Hubalek, A. European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? / A. Hubalek // *Viral. Immun.* – 2000. – Vol. 13, N 4. – P. 415–426.

29 Increased pathogenicity of West Nile virus (WNV) by glycosylation of envelope protein and seroprevalence of WNV in wild birds in Far Eastern Russia / H. Kariwa [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2013. – Vol. 10, N 12. – P. 7144–7164.

30 Incidence and effects of West Nile virus infection in vaccinated and unvaccinated horses in California / I. Gardner [et al.] // *Vet. Res.* – 2007. – Vol. 38. – P. 109–116.

31 Kilpatrick, A. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus / A. Kilpatrick // *Science.* – 2011. – Vol. 334. – P. 323–327.

32 Komar, N. West Nile viral encephalitis / N. Komar. // *Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.* – 2000. Vol. 19, N 1. – P. 166–176.

33 Kramer L.D. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus / L.D. Kramer, L.M. Styer, G.D. Ebel // *Annu. Rev. Entomol.* – 2008. – Vol. 53. – P. 61–81.

34 Lelli, R. *West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future* [Electronic resource] / R. Lelli // *Euro Surveill.* – 2010. – Vol. 15, N 15. – pii.=19538. – Mode of access: <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V15N15/art19538.pdf>. – Date of access: 18.04.2014.

35 *Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe* / T. Bakoni [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 12. – P. 618–623.

36 Long, M. T. *West Nile virus and equine encephalitis viruses : new perspectives* / M. T. Long // *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* – 2014. – Vol. 30. – P. 523–542.

37 Mackenzie, J. S. *The zoonotic flaviviruses of southern, southeastern and eastern Asia, and Australasia: the potential for emergent viruses* / J. S. Mackenzie, D. T. Williams // *Zoonoses Public Health.* – 2009. – Vol. 56. – P. 338–356.

38 Mukhopadhyay, S. *Structure of West Nile virus* / S. Mukhopadhyay // *Science.* – 2003. – Vol. 302, N 5643. – P. 248.

39 *Outbreak of West Nile virus infection in Greece, 2010* / K. Danis [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 17, N 10. – P. 1868–72.

40 *Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010* / A. Sirbu [et al.] // *Eur. Surveill.* – 2011. – Vol. 2. – P. 1–5.

41 *Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999* / A.E. Platonov [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001. – Vol. 7. – P. 128–132.

42 *Phylogeography and epidemiological history of West Nile virus genotype 1a in Europe and the Mediterranean basin* / G. Zehender [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2011. – Vol. 11. – P. 646–653.

43 *Phylogeography of West Nile virus: From the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas* / F. May [et al.] // *J. Virol.* – 2011. – Vol. 85. – P. 2964–2974.

44 Pradier, S. *West Nile virus epidemiology and factors triggering change in its distribution in Europe* / S. Pradier, S. Lecollinet, A. Leblond // *Rev. Sci. Tech.* – 2012. – Vol. 31, N 3. – P. 829–844.

45 Rossi, S. L. *West Nile virus* / S. L. Rossi, T. M. Ross, J. D. Evans // *Clin. Lab. Med.* – 2010. – Vol. 30, N 1. – P. 47–65.

46 Samoilo, T. I. *Virologic and serologic investigations of West Nile virus circulation in Belarus* / T. I. Samoilo, V. I. Votikov, L. P. Titov // *Cent. Eur. J. Public Health.* – 2003. – Vol. 11, N 2. – P. 55–62.

47 Ulbert, S. *West Nile virus: the complex biology of an emerging pathogen* / S. Ulbert // *Intervirology.* – 2011. – Vol. 54, N 4. – P. 171–184.

48 Weaver, S. C. *Present and future arboviral threats* / S. C. Weaver, W. K. Reisen // *Antiviral Res.* – 2010. – Vol. 85, N 2. – P. 328–345.

49 *West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania* / T. F. Tsai [et al.] // *Lancet.* – 1998. – Vol. 352, N 9130. – P. 767–771.

50 *West Nile virus and other arboviral diseases – United States, 2013* / N. P. Lindsey [et al.] // *MMWR.* – 2014. – Vol. 63, N 24. – P. 521–526.

51 *West Nile virus antibody prevalence in horses of Ukraine* / U. Ziegler [et al.] // *Viruses.* – 2013. – Vol. 5, N 10. – P. 2469–2482.

52 *West Nile Virus: biology, transmission, and human infection* / T. M. Colpitts [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2012. – Vol. 25, N 4. – P. 635–648.

53 *West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention* / V. Sambri [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2013. – Vol. 19, N 8. – P. 699–704.

54 *West Nile virus infection: West Nile fever, West Nile neuroinvasive disease, West Nile disease, Near Eastern equine encephalitis, Lordige.* [Electronic resource] / Center for Food Security and Public Health (CFSPH) / World Organisation for Animal Health (OIE) / Institute for international cooperation in animal biologics. – 2009. – Mode of access: www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/west_nile_fever.pdf. – Date of access: 18.04.2013.

55 *West Nile virus lineage 2 strain in Greece, 2012* / S. Chaintoutis [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 19. – P. 827–829.

56 *West Nile virus (Kunjin subtype) disease in the northern territory of Australia – a case of encephalitis and review of all reported cases* / T. J. Gray [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2011. – Vol. 85, N 5. – P. 952–956.

57 West Nile virus transmission cycle [Electronic resource] / Centers for Disease Control and Prevention (CDC). – Mode of access : <http://www.cdc.gov/westnile/transmission>. – Date of access : 15.01.2015.

58 Zeller, H. G. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean Basin in contrast to its spread in the Americas / H. G. Zeller, I. Schuffenecker // *Eur. J. Clin. Microbiol.* – 2004. – Vol. 23, N 3. – P. 147–156.

59 Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases / H. Weissenböck [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2010. – Vol. 140, N 34. – P. 271–280.

УДК 619:597.22

Зайцева В.В., магистр биологических наук

Филиал РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского», г. Витебск

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПРИРОДНЫХ КОМПОНЕНТОВ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ДЕРМАТОФИТОВ НА СУСЛО-АГАРЕ

Резюме

Цель работы – оптимизировать продуктивность дерматофитов по мицелле- и спорогенезу путем включения в состав сусло-агара некоторых продуктов животного происхождения и природных компонентов.

В ходе проведенных исследований осуществлена работа по изучению влияния на рост и спорогенез дерматофитов разных объемов содержимого куриного яйца, сухого молока, препаратов «Бионорм Б» и «Бионорм В».

По результатам проведенной работы установлено, что при оптимальном содержании в сусло-агаре (2,5%) содержимого куриного яйца у всех изученных штаммов гриба трихофитон мицелле- и спорообразование повышались соответственно на 58,0–60,0% и 83,8–86,1%. Наиболее высокая продуктивность по мицелле- и спорообразованию у всех исследуемых видов гриба трихофитон была установлена на сусло-агаре, содержащем 1,0% бионорма Б, 5,0–8,0% бионорма В и до 1,0% сухого молока.

Summary

The aim is to optimize productivity by dermatophytes micelles and sporogenesis by adding some natural ingredients in the composition of the wort – agar. In the course of the research work the effect on the growth of dermatophytes and sporogenesis of different concentrations of the egg, milk powder of different concentrations of the drug Bionorm B and Bionorm V has been carried out. According to the results of the work it has been established that the optimal content of the wort – agar (2,5%) of the components of chicken eggs in all studied strains of the fungus *Trichophyton* , and sporulation of the mycelium rose respectively by 58,0-60,0% and 83,8-86,1%. The highest productivity by mycelium and spore formation in all species studied fungus *Trichophyton* was seen on wort agar containing 1,0% Bionorm B, Bionorm V 5,0-8,0% , and up to 1,0% milk solids.

Поступила в редакцию 11.05.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Главной целью выращивания микроорганизмов на определенных питательных субстратах является изучение их морфологии и физиологии, а также накопление биомассы, используемой в различных направлениях исследований и производстве биологических препаратов.

В настоящее время для выращивания

культур гриба вида *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes* в качестве питательной среды у нас в стране, используется сусло-агар. Основным компонентом сусло-агара является неохмеленное пивное сусло, являющееся природным компонентом и имеющее сложный и непостоянный состав, так как оно изготавливается из разных сортов ячменя и по специ-

альной технологии для каждого сорта пива. В результате многочисленных исследований было установлено, что на сериях сусло-агара из различных сортов пивного сусла рост и спорообразование культур гриба рода *Trichophyton* резко отличается [2, 5].

По характеру роста и другим признакам культура гриба *Trichophyton verrucosum* отнесена к варианту *albu* [2].

Грибы рода трихофитон дают глубокие, мощные ветвления в субстрат [3].

В частности, субстратом питания для этих грибов является кератин, содержащийся в коже и придатках [8]. Поэтому во многих странах мира отработан метод культивирования дерматомицетов на волосах.

При культивировании возбудителей дерматомикозов важным является не только угнетение банальной микрофлоры, но и стимуляция роста разными методами.

Кашкин П.Н. (1961) и другие рекомендуют использовать для стимуляции роста дерматофитов витамин В₁.

Интенсивный рост грибов также установлен на средах, содержащих от 1,0 до 4,0% углеводов.

Головина Н.П. отмечает, что испытанные штаммы различных видов рода *Trichophyton* более интенсивно растут на средах, содержащих глюкозу и фруктозу [1].

Саркисовым К.А. было установлено, что при добавлении мальтозы в сусло-агар отмечалось повышенное спорообразование у *Tr. verrucosum*, при этом в виде свободных микроконидий [6].

Питательные вещества усваиваются грибами только при определенном значении рН среды, т.к. проницаемость оболочки грибной клетки зависит от этого фактора. Также важен для роста микроорганизмов температурный фактор. Грибы развиваются при температуре 0–5°C, но оптимальная для дерматофитов – 25–28°C.

При выращивании дерматофитов образуются артроспоры двух типов: цилиндрические и округлые, иногда близкие к кубической форме.

Первые образуются вследствие фрагментации мицелия и не обладают утолщенной клеточной стенкой, а вторые имеют заметно утолщенные стенки, темноокрашенные и также образуются из мицелия, но в результате его существенной перестройки. В первом случае артроспоры дерматофитов исследователи относят к типу ксеноспор, а во втором – мемноспор [4].

При использовании того или иного штамма в качестве вакцинного следует обращать внимание не только на уровень спорообразования, но и на другие факторы, зависящие от его генотипа [7].

Головина Н.П. и Иванова Л.Г. (1983) отмечают, что *Tr. verrucosum* хорошо также развивается на картофельной среде.

Телишевская Л.Я. с соавторами (1983) установили, что для культур *Tr. Mentagrophytes* необходимы три аминокислоты: глутаминовая, аспарагиновая и серин. Они отмечают, что все же лучший рост дерматофитов достигается при дополнительном внесении ароматических аминокислот. Полное потребление аминокислот может свидетельствовать о том, что они являются лимитирующим фактором при выращивании данного гриба.

По данным указанных авторов трихофитон при культивировании на сусло-агаре утилизирует 2,0% сахаров, все аминокислоты, а также некоторое количество фосфора. Они рекомендуют при создании питательной среды для дерматофитов предусматривать некоторый избыток аминокислот и более 2,0% углеводов.

Влияние аминокислотного состава сусла на спорогенез культур гриба рода *Trichophyton* изучал также Одноволик Ю.В. [4].

Работами, проведенными рядом авторов, установлено, что во всех противодерматофитных вакцинах микроконидии, как один из элементов грибов, являются носителем иммуногенности препаратов. Другие элементы, в том числе и вегетативная форма культур – мицелий, обладают низкой иммуногенностью и не обеспечивают со-

здание напряженного иммунитета.

Таким образом, для изготовления вакцин необходимо использовать культуры гриба рода *Trichophyton* с высоким спорогенезом. Это достигается как путем последовательной и постоянной селекции производственных штаммов грибов рода *Trichophyton*, так и путем подбора питательных сред, обеспечивающих образование ими большого количества микроконидий.

Цель работы – оптимизировать продуктивность дерматофитов по мицелле- и спорогенезу путем включения в состав сусло-агара некоторых продуктов животного происхождения и природных компонентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на филиале РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Объектом исследований явились штаммы гриба *Trichophyton verrucosum* № 130, *Trichophyton verrucosum* № 11183 и *Trichophyton mentagrophytes* № 135.

Исследования проводили на агаризованных питательных средах, приготовленных на основе известных прописей и разработанных нами в ходе исследований. В опыте использовали смесь желтка и белка куриного яйца, сухое молоко, препараты «Бионорм Б» (содержит биологически активные компоненты торфа) и «Бионорм В» (содержит биологически активные компоненты бурых водорослей). Оптимизацию компонентного состава питательной среды, объема вносимого посевного материала и режимов культивирования проводили традиционными микробиологическими и биотехнологическими методами, основанными на законах, описывающих протекание фундаментальных процессов микробиосинтеза (процесс размножения несовершенного гриба *Trichophyton*), накопление биомассы и микроконидий, изменение содержания компонентов питательной среды.

Процесс спорообразования гриба кон-

тролировали методом подсчета клеток в камере Горяева.

Накопление биомассы гриба в динамике развития контролировали методом доведения до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 105°C, для чего снимали грибную массу с поверхности среды в разные часы культивирования.

Утилизацию углеводов в динамике развития гриба контролировали с помощью антронового метода. Антроновый реактив готовили следующим образом: в мерную колбу через воронку добавляли 0,2 г антрона, а затем серную кислоту до метки (объем колбы 1,0 дм³). Далее определяли количество сахаров: в химически чистые пробирки вносили антроновый реактив в количестве 2,0 см³ и 1,0 см³ среды до засева и после смыва грибной массы. Далее пробы ставили на водяную баню на 15–20 минут. Пробы охлаждали и определяли оптическую плотность при 620–625 нм на спектрофотометре РД-303 UV.

Важным элементом оптимизации технологического процесса является выбор критерия эффективности. В качестве критерия эффективности использовали такие показатели, как количество мицелия и микроконидий в единице среды, жизнеспособность микроконидий, индекс мицелле- и спорообразования, содержание микроконидий в единице биомассы сухого мицелия. Количество живых клеток подсчитывали с помощью высева разных разведений исследуемой культуры гриба на твердые питательные среды.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований изучили влияние разных концентраций содержимого куриного яйца на рост и спорогенез гриба.

Для этого содержимое яйца гомогенизировали в стерильном гомогенизаторе. Гомогенат вносили в охлажденный до 50°C стерильный сусло-агар в дозе 10,0; 25,0 и 50,0 см³ на 1 дм³ среды.

Наиболее высокая продуктивность мицелия у грибов выявлена при содержании в среде 25,0–50,0 см³/дм³ гомогената.

Менее выраженный эффект влияния содержимого яйца установлен при его объеме в среде 10,0 см³/дм³.

При его оптимальном содержании в среде (2,5%) у штаммов *Trichophyton verrucosum* № 130, *Trichophyton verrucosum* № 11183 и *Trichophyton mentagrophytes* № 135 повышался рост мицелия соответственно на 58,0; 60,0 и 60,0%, а индекс спорообразования – на 83,8; 85,2 и 86,1%.

Уровень содержания спор в сухом ми-

целии, полученном в среде, содержащей 25,0–50,0 см³/дм³ гомогената яйца, у разных штаммов грибов составил 20,0–20,7 млн. спор/мг.

В то же время при низкой его концентрации (1,0%) в среде, в сухом мицелии грибов содержалось 17, 2–17, 6 млн. спор/мг, что соответствует контролю.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние разных объемов содержимого куриного яйца на рост и спорогенез гриба трихофитон

Штамм	Объем содержимого куриного яйца в среде, см ³ /дм ³	Концентрация микроконидий млн/см ³ среды	Индекс спорообразования, %	Жизнеспособность, %	Концентрация сухого мицелия мг/см ³ среды	Индекс образования мицелия, %	Содержание микроконидий млн/мг сухого мицелия
<i>Trichophyton verrucosum</i> № 130	10	122,7	138,2	81,1	7,0±0,05	140,0	17,5
	25	163,2	183,8	81,2	7,9±0,1	158,0	20,7
	50	155,0	174,5	80,6	7,7±0,15	154,0	20,1
	сусло-агар	88,8	100,0	80,4	5,0±0,05	100,0	17,8
<i>Trichophyton verrucosum</i> № 11183	10	123,2	138,3	80,7	7,0±0,1	140,0	17,6
	25	165,0	185,2	80,9	8,0±0,05	160,0	20,6
	50	156,3	175,2	80,6	7,6±0,1	152,0	20,6
	сусло-агар	89,1	100,0	80,4	5,0±0,1	100,0	17,8
<i>Trichophyton Mentagrophytes</i> № 135	10	120,6	138,1	80,3	7,0±0,1	140,0	17,0
	25	162,5	186,1	80,6	8,0±0,1	160,0	20,3
	50	151,7	173,8	80,4	7,6±0,15	152,0	20,0
	сусло-агар	87,3	100,0	80,3	5,0±0,1	100,0	17,5

Изучили также влияние препарата «Бионорм Б» на рост и спорогенез грибов. Для этого перед стерилизацией сусло-агара препарат «Бионорм Б» вносили в объеме 1,0; 3,0; 5,0 и 8,0%. Наиболее высокая продуктивность по мицелле- и спорообразованию разные грибы проявляли при внесении в среду бионорм Б в объеме 5,0–8,0%.

Так мицелле- и спорообразование культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. Verrucosum* № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135 на средах с 5,0 и 8,0% бионорм Б повышались соответственно на 70,6–92,0% и 94,8–

112,4%.

Экономически предпочтительнее в среду добавлять бионорм Б до 5,0%. Содержание микроконидий в мицелии существенно повышалось при включении в среду бионорм Б в объеме 1,0–8,0%.

Наиболее значимо повышался данный показатель при внесении в среду бионорм Б в объеме 1,0%.

Так, у культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 и *Tr. Mentagrophytes* № 135, выращенных на сусло-агаре с 1,0% бионорм Б, содержание спор в мицелии повышалось соответственно на 34,5;

52,9 и 22,9%. У культур гриба *Tr. Verrucosum* № 130, выращенных на сусло-агаре с 3,0; 5,0 и 8,0% бионорм В, содержание спор в мицелии повышалось соответственно на 6,3; 9,8 и 16,1%.

Содержание спор в мицелии гриба *Tr. verrucosum* № 11183, полученном на сусло-агаре с 3,0; 5,0 и 8,0% бионорм В, повышалось относительно контрольной среды соответственно на 13,5; 32,9 и 32,4%.

У культуры гриба *Tr. mentagrophytes*

№ 135 при выращивании на сусло-агаре с 3,0% бионорм В установлен факт более интенсивного образования мицелия, чем спорогенеза.

Включение бионорм В в среду в объеме 3,0–5,0% повышает жизнеспособность спор у разных культур на 1,7–2,3%. Данные по изучению влияния разных концентраций препарата «Бионорм В» на рост и спорообразование дерматофитов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние разных объемов препарата «Бионорм В» на рост и спорообразование дерматофитов

Штамм	Объем препарата в среде, см ³ /дм ³	Концентрация микроконидий млн/ см ³ среды	Индекс спорообразования, %	Жизнеспособность, %	Концентрация сухого мицелия мг/ см ³ среды	Индекс образования мицелия, %	Содержание микроконидий млн/мг сухого мицелия
Trichophyton verrucosum №130	1,0	123,9	123,9	81,2	5,3±0,1	103,9	23,4
	3,0	159,3	159,3	83,0	8,6±0,1	168,2	18,5
	5,0	194,8	194,8	82,7	9,7±0,05	190,2	19,1
	8,0	188,0	188,2	81,7	9,3±0,05	182,4	20,2
	сусло-агар	88,5	100,0	81,2	5,1±0,1	100,0	17,4
Trichophyton verrucosum № 11183	1,0	121,4	139,0	81,5	5,3±0,15	103,9	26,0
	3,0	147,3	169,9	83,2	8,8±0,1	172,5	19,3
	5,0	184,4	212,4	82,7	9,4±0,05	184,3	22,6
	8,0	169,6	195,4	82,2	8,7±0,1	170,6	22,5
	сусло-агар	86,8	100,0	80,8	5,1±0,1	100,0	17,0
Trichophyton mentagrophytes № 135	1,0	116,3	133,2	81,4	5,4±0,05	108,0	21,5
	3,0	153,7	175,3	82,1	9,6±0,05	192,0	16,0
	5,0	185,2	212,1	82,3	9,6±0,1	192,0	19,3
	8,0	177,3	203,1	81,6	9,4±0,1	188,0	18,9
	сусло-агар	87,3	100,0	80,6	5,0±0,1	100,0	17,5

Далее исследовали влияние разных объемов препарата «Бионорм В», на рост и спорообразование дерматофитов. Для этого перед стерилизацией сусло-агара препарат «Бионорм В» вносили в объеме 1,0; 3,0; 5,0 и 8,0%. Мицелле- и спорообразование культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135 повысились при содержании в среде 5,0–8,0% препарата «Бионорм В» соответственно на 70,0 – 94,0 и 83,0–131,0%.

Но экономически более целесообразно в среду добавлять до 5,0% препарата «Бионорм В».

Содержание микроконидий в мицелии повышалось при выращивании разных штаммов грибов на сусло-агаре, содержащем 1,0–8,0% препарата Бионорм В. Наиболее выраженное повышение данного показателя нами установлено при включении в среду 3,0% бионорма В.

Так, у культур *Tr. verrucosum* № 130,

Tr. verrucosum № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135, выращенных на сусло-агаре с 3,0% бионорм В, содержание спор в мицелии повысилось соответственно на 31,7; 43,9 и 38,2%.

У гриба *Tr. verrucosum* № 130, выращенного на сусло-агаре с 1,0; 5,0 и 8,0% бионорм В, содержание спор в мицелии повысилось соответственно на 28,7; 20,1 и 8,6%.

Содержание спор в мицелии гриба *Tr. verrucosum* № 11183, полученном на сусло-агаре с 1,0; 5,0 и 8,0% бионорм В,

повысилось относительно контрольной среды соответственно на 25,7; 19,3 и 5,3%.

У культур гриба *Tr. mentagrophytes* № 135, выращенных на среде с 1,0; 5,0 и 8,0% бионорм В, содержание спор повысилось соответственно на 15,5; 13,3 и 5,2%.

При включении в состав среды 3,0–5,0% бионорм В жизнеспособность микрокониций у культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 *Tr. mentagrophytes* № 135 повысилась соответственно на 1,9–2,7%, 2,2–2,5% и 3,0–3,5% (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние разных объемов препарата «Бионорм В» на рост и спорообразование дерматофитов

Штамм	Объем препарата в среде, см ³ /дм ³	Концентрация микрокониций млн/см ³ среды	Индекс спорообразования, %	Жизнеспособность, %	Концентрация сухого мицелия мг/см ³ среды	Индекс образования мицелия, %	Содержание микрокониций млн/мг сухого мицелия
Tri-chophyton verrucosum № 130	1,0	116,3	131,0	81,3	5,2±0,05	101,9	22,4
	3,0	136,8	154,0	83,0	5,5±0,05	107,8	24,9
	5,0	200,7	228,0	82,3	9,6±0,05	188,2	20,9
	8,0	166,1	187,0	80,8	8,8±0,1	172,5	18,9
	сусло-агар	88,8	100,0	81,5	5,1±0,05	100,0	17,4
Tri-chophyton verrucosum № 11183	1,0	109,6	128,0	81,4	5,1±0,1	102,0	21,5
	3,0	135,2	158,0	83,5	5,5±0,1	110,0	24,6
	5,0	197,7	231,0	83,3	9,7±0,05	194,0	20,4
	8,0	156,6	183,0	80,6	8,7±0,1	174,0	18,0
	сусло-агар	85,6	100,0	81,5	5,0±0,05	100,0	17,1
Tri-chophyton mentagrophytes № 135	1,0	106,2	122,6	81,3	5,3±0,05	106,0	20,0
	3,0	134,0	154,7	82,8	5,6±0,05	112,0	23,9
	5,0	188,6	217,8	83,2	9,5±0,1	190,0	19,6
	8,0	154,7	178,6	80,4	8,5±0,1	170,0	18,2
	сусло-агар	86,6	100,0	80,8	5,0±0,1	100,0	17,3

В заключительном опыте нами было изучено влияние разных объемов сухого молока на рост и спорообразование дерматофитов.

При выращивании дерматофитов на сусло-агаре, содержащем 1,0% сухого молока, индекс образования мицелия у культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135 повышался соответственно на 48,0; 60,0 и

48,0%, а индекс спорообразования – на 69,1; 70,6 и 66,9%.

Следует отметить, что жизнеспособность микрокониций составила 81,1–81,3%.

При внесении в среду 0,5% сухого молока индекс образования мицелия у культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135 повышался на 26,0%, а индекс спорогенеза – на

13,7–14,0%.

Сусло-агар, содержащий 2,0% сухого молока, повышал индекс мицелиобразования у культур гриба на 4,0–10,0%, в то время как уровень спорогенеза был на уровне контроля.

Следует отметить, что только внесение в среду 1,0% сухого молока способствовало повышению содержания микро-

конидий в мицелии культур *Tr. verrucosum* № 130, *Tr. verrucosum* № 11183 и *Tr. mentagrophytes* № 135 соответственно на 14,0; 6,7 и 12,6%.

Из полученных данных следует, что для активного роста и спорогенеза дерматофитов в сусло-агар предпочтительно включать 1,0% сухого молока. Результаты исследований отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Влияние разных объемов сухого молока на рост и спорообразование дерматофитов

Штамм	Объем сухого молока в среде, см ³ /дм ³	Концентрация микроконидий млн/см ³ среды	Индекс спорообразования, %	Жизнеспособность, %	Концентрация сухого мицелия мг/см ³ среды	Индекс образования мицелия, %	Содержание микроконидий млн/мг сухого мицелия
Trichophyton verrucosum № 130	0,5	101,2	114,0	80,8	6,3±0,05	126,0	16,1
	1,0	150,2	169,1	81,2	7,4±0,05	148,0	20,3
	2,0	88,5	99,7	80,6	5,5±0,1	110,0	16,1
	сусло-агар	88,8	100,0	80,4	5,0±0,05	100,0	17,8
Trichophyton verrucosum № 11183	0,5	101,4	113,8	80,8	6,3±0,05	126,0	16,1
	1,0	152,0	170,6	81,3	8,0±0,1	160,0	19,0
	2,0	90,1	101,1	80,5	5,2±0,05	104,0	17,3
	сусло-агар	89,1	100,0	80,4	5,0±0,05	100,0	17,8
Trichophyton mentagrophytes № 135	0,5	99,3	113,7	80,4	6,3±0,1	126,0	15,8
	1,0	145,7	166,9	81,1	7,4±0,1	148,0	19,7
	2,0	86,7	99,3	80,3	5,5±0,05	110,0	15,8
	сусло-агар	87,3	100,0	80,3	5,0±0,1	100,0	17,5

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внесение в сусло-агар оптимальных объемов содержимого куриного яйца, сухого молока, препаратов «Бионорм Б» и «Бионорм В» обеспечивает повышение мицели- и спорообразования у всех видов гриба трихофитон.

При оптимальном включении в сусло-агар (2,5%) содержимого куриного яйца у всех изученных штаммов гриба трихофитон мицели- и спорообразование повышалось соответственно на 58,0–60,0% и 83,8–86,1%.

Наиболее высокая продуктивность по мицели- и спорообразованию у всех исследуемых видов гриба трихофитон была установлена на сусло-агаре, содержащем 1,0% бионорма Б.

Максимальное повышение мицели- и спорообразования у всех видов гриба трихофитон было установлено на сусло-агаре с 5,0–8,0% содержанием бионорма В.

Для обеспечения активного роста мицелия и повышения спорогенеза у разных видов гриба трихофитон в сусло-агар предпочтительно включать до 1,0% сухого молока.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Головина, Н.П. Биология возбудителя *Trichophyton verrucosum* var. *autotrophicum* и разработка вакцины против трихофитии овец: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 16.00.24 / Н.П. Головина ; ВИЭВ. – М., 1991. – 53 с.
- 2 Насер, А.А. Трихофития крупного рогатого скота в Сирийской Арабской Республике (САР) / А.А. Насер // Бюллетень ВИЭВ. – М., 1991. – Вып. 75–76. – С. 142–145.
- 3 Овчинников, Р.С. Изучение изменчивости морфологических характеристик дерматофитов / Р.С. Овчинников // Вестник РАСХН. – М., 1999. – № 5. – С. 37–39.
- 4 Одноволик, Ю.В. Оптимизация условий спорообразования вакцинных штаммов рода *Trichophyton* : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Ю.В. Одноволик ; ВИЭВ. – М., 2001. – 13 с.
- 5 Одноволик, Ю.В. Рост и спорогенез грибов рода *Trichophyton* на партиях сусло-агара, приготовленных из разных сортов пивного сусла / Ю.В. Одноволик // Селекция, кормление, содержание сельскохозяйственных животных и технология производства продуктов животноводства. – М., 1997. – Вып. 2. – С. 151–154.
- 6 Саркисов, К.А. Добавление растворов углеводов в сусло-агар и спорогенность культуры *Trichophyton verrucosum* / К.А. Саркисов // Сборник научных трудов / Всесоюзный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов. – 1991 (1992). – Т. 53. – С. 99–102.
- 7 Шакарашвили, Н.Р. Сравнительное изучение антигенной активности *Trichophyton verrucosum* Bodin, 1902 и *Trichophyton verrucosum* var. *ochraceum sabourand*, 1909 / Н.Р. Шакарашвили // Мат. 3 Республик. науч. конф. молодых ученых и специалистов в области животноводства, ветеринарии и экономики сельского хозяйства. – М., 1985. – С. 152–153.
- 8 Odds, F. / F. Odds // 5 th Conference on Candida and Candidiasis, March 1-4, 1999 in Charleston, South Carolina // Mycology Newsletter. – South Carolina, 1999. – № 1. – P. 9–14.

КМП-плюс препарат ветеринарный



- ♦ для профилактики у крупного рогатого скота и свиней заболеваний, обусловленных дефицитом входящих в его состав биоэлементов
- ♦ для лечения телят, больных энзоотическим зобом, железодефицитной анемией, беломышечной болезнью, токсической дистрофией печени
- ♦ для улучшения воспроизводительной функции коров и свиноматок, профилактики у них родовой и послеродовой патологии
- ♦ для повышения жизнеспособности новорожденного молодняка



- ♦ железо, йод, селен, марганец, кобальт, входящие в состав препарата, комплексно воздействуют на организм животного
- ♦ эффективно влияет на состояние эритропоэза, обмен веществ, активность многих ферментов и гормонов, рост и развитие организма, регулирует функцию половых желез и тимуса
- ♦ повышает устойчивость к заболеваниям и неблагоприятным факторам внешней среды



Изготовитель: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вьшелесского»
 220003, г. Минск, ул. Брикета, 28, тел./факс (+37517) 5088131
 По вопросам приобретения препарата Вы можете обратиться в отдел снабжения и сбыта
 тел. (017) 508-81-35 E-mail: bievmt@tut.by

УДК 619:616.98:578.823.2:636.5

Радюш И.С., младший научный сотрудник
 Насонов И.В., доктор ветеринарных наук, доцент
 Лазовская Н.О., ассистент*

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск
 *УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

КОНСТРУИРОВАНИЕ ВАКЦИНЫ ЖИВОЙ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА ЦЫПЛЯТ ИЗ ШТАММА «КМИЭВ-V118» И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЕЁ ПРИМЕНЕНИЯ

Резюме

В статье предоставлены данные исследований по конструированию вакцины живой против реовирусного теносиновиита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118». Установлено, что наибольшей иммуногенностью и профилактической эффективностью обладает вакцина, в состав которой входит вирусная суспензия штамма «КМИЭВ-V118» и защитная среда в соотношении 3:2, где защитная среда включает (по сухому веществу) 12,5% сахарозы, 12,5% ГЛА, 1,25% желатозы. Экономический эффект от импортозамещения при иммунизации ремонтного молодняка кур-бройлеров против реовирусной инфекции вакциной из штамма «КМИЭВ-V118» по сравнению с импортной вакциной аналогом Nobilis REO из штамма «1133» (Intervet) составляет 374 000 рублей на 1 000 голов. Окупаемость ветеринарных мероприятий при использовании разработанной вакцины составляет 4,62 рубля на рубль затрат.

Summary

The article presents the results of researches on the design of a live vaccine for prevention the reovirus tenosynovitis of chickens from "KMIEV-V118" strain. The results prove that the greatest immunogenicity and preventive efficiency the vaccine possesses which structure includes virus suspension of strain "KMIEV-V118" and the protective medium in the ratio 3:2, at following structure of the protective medium (of a dry substance) 12.5% of sucrose, 12.5% of LAH, 1.25% of gelatose. The economic effect from import substitution at immunization of broiler breeders against reovirus infection a vaccine of strain "KMIEV-V118" in comparison with an import analogue vaccine Nobilis REO of strain "1133" (Intervet) makes 374 000 roubles on 1 000 heads. The recoupment of veterinary measures at use of the created vaccine makes 4,62 roubles on rouble of costs.

Поступила в редакцию 25.02.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях ведения промышленного птицеводства всё чаще выявляются новые, ранее неизвестные и малоизученные инфекционные заболевания вирусной этиологии. Одним из таких заболеваний является реовирусная инфекция птиц.

Реовирусная инфекция птиц широко распространена во всех странах с развитым птицеводством и наносит значительный экономический ущерб [2, 5, 6], который складывается из потерь в результате заболевания: повышение смертности в стаде (5–30%), повышение выбраковки из-за хромоты на

2–15%, задержка роста и развития цыплят до 40% [4, 6, 8], уменьшение яйценоскости на 6–20%, снижение оплодотворяемости и выводимости инкубационных яиц [2, 4, 5, 6, 9], а также из затрат, направленных на снижение и ликвидацию последствий первичных потерь [2, 4, 5]. Иммунодепрессивное действие реовируса обуславливает частую ассоциацию реовирусной инфекции с различными инфекциями вирусной и бактериальной этиологии, что препятствует формированию поствакцинального иммунитета против вирусных болезней, снижает резистентность птицепоголовья к неблагоприятным факторам окружающей среды [5, 6].

Общие ветеринарно-санитарные мероприятия не способны в полной мере обеспечить оздоровление птицеводческих хозяйств от реовирусной инфекции [3].

Основной формой контроля эпизоотического процесса остаётся вакцинопрофилактика. Профилактика вирусных болезней с применением вакцин достигла исключительно широких масштабов и занимает ведущее место в борьбе со многими вирусными заболеваниями человека, животных и птиц. Предотвращённый экономический ущерб, благодаря применению вакцин, достигает огромных размеров. Вместе с тем следует отметить, что производство и методы контроля вакцинных препаратов стали достаточно сложными и трудоёмкими при постоянном требовании улучшения их качества и безопасности применения [7].

Для специфической профилактики реовирусной инфекции птиц применяют как живые, так и инактивированные вакцины [8].

В Республике Беларусь реовирусная инфекция официально не зарегистрирована, однако существует угроза заноса возбудителя на территорию нашей страны из сопредельных государств. Поэтому проводится постоянный мониторинг птицефабрик Республики Беларусь на отсутствие инфекций, а также профилактическая вакцинация на некоторых из них.

В Республике Беларусь вакцина против реовирусной инфекции птиц не выпускается, поэтому специфическая профилактика проводится за счёт использования импортных вакцинных препаратов, что требует больших финансовых затрат. В связи с этим создание и внедрение в производство отечественной живой вакцины против реовирусной инфекции птиц является актуальной задачей.

Цель работы – конструирование вакцины живой против вирусного теносиновита цыплят – определение оптимального соотношения компонентов в ней и экономической эффективности её применения в условиях производства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При конструировании вакцины живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» проводили подбор оптимальной защитной среды для лиофильной сушки и оптимального соотношения компонентов вакцины.

К вирусной суспензии штамма «КМИЭВ-V118» добавляли защитную среду в соотношении 3:2 по объёму соответственно, при этом использовали 3 варианта состава защитной среды (по сухому веществу): а) сахараза – 12,5%, ГЛА – 12,5%, желатоза – 1,25%; б) сахараза – 22,5%, ГЛА – 10%, желатоза – 0,5%; в) сахараза – 30%, ГЛА – 6%, желатоза – 1%.

Криопротективную эффективность защитных сред и веществ определяли, исходя из изменения биологической активности вируса после лиофильного высушивания вакцины.

Для определения биологической активности реовируса использовали суспензию перевиваемой культуры клеток Vero в концентрации $2,5-3 \times 10^5$ кл/см³, которую вносили по 100 мм³ в каждую лунку 96-луночного культурального планшета с плоским дном.

Лиофильно высушенные образцы восстанавливали до первоначального объёма (4 см³) питательной средой DMEM и DMEM-NEPES (1:1) с добавлением 2% ЭТС, затем готовили 10-кратные разведения исследуемых образцов жидких полуфабрикатов вакцины и соответствующих образцов после лиофилизации (10^{-1} – 10^{-8}) на той же питательной среде.

Подготовленные разведения реовируса переносили в культуральный планшет по 100 мм³ в лунку с перевиваемой культурой клеток Vero. На каждое разведение использовали по 8 лунок. Реакцию сопровождали контролем клеток – лунки с культурой клеток этой же партии, в которые вносили поддерживающую питательную среду в объёме 100 мм³. После этого планшеты помещали в CO₂-инкубатор (CO₂ 5%) при температуре плюс 37°C.

Результаты учитывали через 144–168 ч

по проявлению специфической деструкции в заражённой культуре клеток Vero при отсутствии таковой в контроле.

Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Опыт проводили в 3 повторностях.

Для определения оптимального соотношения вирусной суспензии штамма «КМИЭВ-V118» с биологической активностью не менее $6,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ и защитной среды для лиофильной сушки вакцины к вирусной суспензии штамма «КМИЭВ-V118» добавляли защитную среду в соотношении 7:3, 3:2 и 1:1 по объёму соответственно, при следующем составе защитной среды (по сухому веществу): 12,5% сахаразы, 12,5% ГЛА, 1,25% желатозы, после чего данные образцы полуфабриката вакцины подвергали лиофилизации. Иммуногенность исследуемых образцов вакцины определяли на SPF-цыплятах. Для этого образцы вакцины восстанавливали раствором натрия хлорида с массовой долей 0,9% до объёма, равного объёму препарата до высушивания, затем готовили разведение 10^{-3} каждого исследуемого образца вакцины и иммунизировали по 25 SPF-цыплят внутримышечно в область бедра в объёме $0,2 \text{ см}^3$. 10 SPF-цыплят контрольной группы не подвергали вакцинации. Иммуногенную активность исследуемых образцов вакцины оценивали через 21 сутки после иммунизации методом ИФА (IDEXX, Нидерланды).

В условиях ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» нами проведен опыт по изучению иммуногенной активности отечественной вакцины живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» и вакцины Nobilis REO 1133 (Intervet, Нидерланды) из штамма «1133» на ремонтном молодняке цыплят-бройлеров (красса Росс 308). Для проведения испытания было сформировано 2 группы птиц: опытная и контрольная по 5 000 голов, которых вакцинировали в возрасте 7 суток внутримышечно в область бедра в объёме $0,2 \text{ см}^3$, ревакцинацию осуществля-

ли в возрасте 35 суток в грудную мышцу. Птице опытной группы применяли вакцину живую против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» в дозе $2,8 \lg \text{ТЦД}_{50}$, а в контроле – вакцину Nobilis REO 1133 в дозе $3,1 \lg \text{ТЦД}_{50}$. Через 21 сутки после иммунизации от 25 цыплят опытной и контрольной групп были отобраны образцы крови для проведения серологических исследований в ИФА набором ProFLOK® REO ELISA производства фирмы «Zoetis-Synbiotics», США, на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Экономическая эффективность была рассчитана на 5 000 поголовья птицы для опытного (вакцина живая против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118») и контрольного (Nobilis REO 1133 из штамма «1133») птичника.

В основу расчёта экономического эффекта от внедрения вакцины положены затраты на разработку, освоение технологии и выпуск данной вакцины. Расчёты проведены в соответствии с учебно-методическим пособием «Определение экономической эффективности мероприятий в ветеринарной медицине» [1], исходя из специфики промышленного птицеводства и течения болезни.

Затраты на ветеринарные мероприятия складывались из стоимости израсходованной вакцины, оплаты труда ветеринарных специалистов и обслуживающего персонала, амортизации оборудования, стоимости расходных материалов.

Расчёт ветеринарных затрат (Z_v) проводили по формуле 1:

$$Z_v = Z_t + Z_m + Z_a, \text{ где} \quad (1)$$

Z_t – затраты труда;

Z_m – стоимость вакцины;

Z_a – амортизация оборудования, стоимость расходных материалов.

На проведение 1-кратной вакцинации 5 000 голов цыплят ветеринарный врач затрачивает 8 ч. Для того, чтобы определить величину зарплаты ветеринарного специа-

листа за короткий промежуток времени (день, ч, мин), необходимо месячный должностной оклад разделить на 25,6. Часовая ставка определяется делением дневной ставки на 8 ч.

Различие затрат на проведение ветеринарных мероприятий в опытном и контрольном птичнике заключается в отличии стоимости соответствующих вакцин. Стоимость отечественной вакцины была рассчитана экономистами РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» с учётом затрат на произ-

водство, стоимости материалов и прибыли и составила 26,0 рублей за 1 дозу, стоимость вакцины Nobilis REO 1133 (Нидерланды) составляла 400,0 рублей за 1 дозу.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты испытаний по определению оптимального состава защитной среды для лиофилизации отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная эффективность защитных сред для лиофилизации вакцины живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118»

Состав защитной среды, % (по сухому веществу)	Биологическая активность (титр вируса), lg ТЦД ₅₀ /см ³	
	до лиофилизации	после лиофилизации
сахароза – 12,5 ГЛА – 12,5 желатоза – 1,25	6,46±0,04	6,29±0,04*
сахароза – 22,5 ГЛА – 10 желатоза – 0,5	6,42±0,08	6,0±0,07*
сахароза – 30 ГЛА – 6 желатоза – 1	6,42±0,04	6,21±0,04*

Примечание – *при $P < 0,05$ по сравнению с титром реовируса до лиофилизации

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что для лиофилизации вакцины живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» защитная среда, в состав которой (по сухому веществу) входит 12,5% сахарозы, 12,5% ГЛА и 1,25% желатозы, а также защитная среда, в состав которой входит 30% сахарозы, 6% ГЛА и 1% желатозы обеспечивают максимальное сохранение биологической активности реовируса. Потери биологической активности реовируса после лиофильной сушки составили

0,17±0,001 lg ТЦД₅₀/см³ и 0,21±0,001 lg ТЦД₅₀/см³ соответственно. Использование защитной среды с содержанием (по сухому веществу) 22,5% сахарозы, 10% ГЛА и 0,5% желатозы приводило к большим потерям биологической активности – 0,42±0,005 lg ТЦД₅₀/см³.

Результаты испытаний по определению оптимального соотношения вирусосодержащей жидкости и защитной среды при изготовлении вакцины представлены в таблице 2 в виде величин, обратных разведениям.

Таблица 2 – Иммуногенность образцов вакцины против реовирусного теносиновита цып - лят из штамма «КМИЭВ-V118» с различной концентрацией защитной среды

Соотношение вирусной суспензии штамма «КМИЭВ-V118» и защитной среды, по объёму	Титр антител в ИФА	Цыплята с титром антител не менее 1:800, %
1:1	2018,48±148,59*	92
3:2	2906,88±165,28	100
7:3	2873,8±192,39	96
контроль	0	0

Примечание – *при $P < 0,001$ по сравнению с образцом вакцины, содержащей вирусную суспензию штамма «КМИЭВ-V118» и защитную среду в соотношении 3:2 по объёму

Данные, представленные в таблице 2, показывают, что наибольшей иммуногенностью и профилактической эффективностью обладает вакцина, в состав которой входит вирусная суспензия штамма «КМИЭВ-V118» и защитная среда в соотношении по объёму 3:2 соответственно.

При экспериментальных исследованиях было выявлено, что профилактическая эффективность при использовании вакцины из штамма реовируса «КМИЭВ-V118» в дозе 2,8 lg ТЦД₅₀ производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» (опытная группа) составляет 96%, а при использовании вакцины Nobilis REO 1133 из штамма «1133» производства «Intervet» (Нидерланды) в дозе 3,1 lg ТЦД₅₀ (контрольная группа), профилактическая эффективность составляет 92%.

В течение периода наблюдения (30 суток) осложнений, связанных с вакцинацией птицы, в опытной и контрольной группах отмечено не было. Также не отмечено клинических признаков заболевания реовирусным теносиновитом у всех вакцинированных цыплят. При исследовании сывороток крови в ИФА набором ProF-LOK® REO ELISA (Zoetis-Synbiotics, США) достоверных отличий титра антител опытной (2418,2±83,8) и контрольной (2089,3±103,7) групп цыплят не выявлено. Таким образом, вакцина против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» и аналогичная вакцина

Nobilis REO 1133 (Нидерланды) в равной степени способны предупреждать реовирусную инфекцию птиц.

Величина зарплаты ветеринарного специалиста за короткий промежуток времени (ч) составила:

$$1789200 : 25,6 : 8 = 8736 \text{ рублей/ч}$$

Стоимость труда ветеринарного специалиста, затраченного на проведение 2-кратной вакцинации составляет:

$$Z_T = 8736 \times 8 \times 2 = 139776 \text{ рублей.}$$

Так как вакцинация проводилась 2-кратно и было использовано по 5 000 доз каждой вакцины, затраты на вакцину составили:

26,0 × 5000 × 2 = 260000 рублей в опытном птичнике;

400,0 × 5000 × 2 = 4000000 рублей в контрольном птичнике;

$$Z_A = 410000 \text{ рублей.}$$

Затраты на проведение ветеринарных мероприятий в опытном птичнике составили:

$$Z_{BO} = 139776 + 260000 + 410000 = 809776 \text{ рублей.}$$

Затраты на проведение ветеринарных мероприятий в контрольном птичнике составили:

$$Z_{BK} = 139776 + 4000000 + 410000 = 4549776 \text{ рублей.}$$

Чистый экономический эффект ветеринарных мероприятий (Э_в) составил:

$$Э_v = 4549776 - 809776 = 3740000 \text{ рублей.}$$

Экономическая эффективность вете-

теринарных мероприятий на рубль затрат для опытного птичника составила:

$$\mathcal{E}_{po} = 3740\ 000 : 809776 = 4,62 \text{ рубля.}$$

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат для контрольного птичника составила:

$$\mathcal{E}_{pk} = 3740000 : 4549776 = 0,82 \text{ рубля.}$$

3 Экономический эффект за счёт импортозамещения составил:

$$\mathcal{E}_и = (400,0 - 26,0) \times 5000 = 1870000 \text{ рублей.}$$

Соответственно, экономический эффект от импортозамещения при иммунизации ремонтного молодняка кур против реовирусной инфекции вакциной живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118», разработанной РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», по сравнению с использованием сухой живой вакцины Nobilis REO из штамма «1133» (Intervet, Нидерланды) составляет 374 000 рублей на 1000 голов. Окупаемость ветеринарных мероприятий при ис-

пользовании разработанной вакцины составляет 4,62 рубля на 1 рубль затрат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показали, что защитная среда, в состав которой входит (по сухому веществу) 12,5% сахарозы, 12,5% ГЛА и 1,25% желатозы, обладает наиболее выраженными протективными свойствами в сравнении с другими стабилизаторами при соотношении вирусной суспензии штамма «КМИЭВ-V118» и защитной среды для лиофилизации 3:2 по объёму.

Использование для профилактики реовирусной инфекции на неблагополучных и угрожаемых по заносу реовируса птицефабриках вакцины живой против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118» является экономически выгодным, так как окупаемость ветеринарных мероприятий при использовании разработанной вакцины составляет 4,62 рубля на 1 рубль затрат.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Безбородкин, Н.С. *Определение экономической эффективности мероприятий в ветеринарной медицине : учеб.-метод. пособие / Н.С. Безбородкин, В.А. Машеро ; М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Учреждение образования "Витеб. гос. акад. ветеринар. медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2009. – 40 с.*
- 2 Бессарабов, Б.Ф. *Болезни птиц: учебное пособие / Б.Ф. Бессарабов, И.И. Мельникова, Н.К. Сушкова, С.Ю. Садчиков – СПб.: «Лань», 2007. – С. 138–144.*
- 3 Жбанова, С.Ю. *Эпизоотология инфекционной бурсальной болезни и реовирусного теносиновита кур на птицефабрике яичного направления : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / С.Ю. Жбанова ; Всерос. науч.-исслед. ветеринар. ин-т птицеводства. – СПб., 2003. – 17 с.*
- 4 Зелютков, Ю.Г. *Реовирусная инфекция кур / Ю.Г. Зелютков, В.А. Машеро, В.В. Петров // Малоизученные вирусные болезни птиц : учеб.-метод. пособие / Ю.Г. Зелютков, В.А. Машеро, В.В. Петров ; Витеб. гос. акад. ветеринар. медицины. – Витебск, 2002. – С. 15–18.*
- 5 Пругло, В.В. *Течение реовирусного теносиновита кур в ассоциации с кокковыми инфекциями : дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / В.В. Пругло ; С.-Петербур. гос. акад. ветеринар. медицины. – СПб., 2005. – 139 л.*
- 6 *Рекомендации по диагностике и профилактике реовирусной инфекции птиц / Рос. акад. с.-х. наук, Гос. науч. учреждение «Всерос. науч.-исслед. ветеринар. ин-т птицеводства»; сост. Б.Б. Трефилов [и др.]. – СПб., 2004. – 32 с.*
- 7 Сергеев, В.А. *Вирусы и вирусные вакцины / В.А. Сергеев, Е.А. Непоклонов, Т.И. Алипер; под ред. В.А. Сергеева. – М.: Библионика, 2007. – 524 с.*
- 8 *Специфическая профилактика реовирусного теносиновита кур / Р.Н. Коровин, Б.Б. Трефилов, А.С. Дубовой, В.В. Картамышева; Всерос. науч.-исслед. ветеринар. ин-т птицеводства. – СПб. – С.303–305.*
- 9 Шкиря, В.И. *Технология изготовления инактивированной вакцины против реовирусного теносиновита птиц: дис. ...канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / В.И. Шкиря. – Владимир, 2000.–125 с.*

УДК 636.6.082.474:636.6.053:612.017

Нимещенко Н.П., доктор ветеринарных наук, профессор
Емельяненко А.А., аспирантка

Белоцерковский национальный аграрный университет, Белая Церковь

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ ИНКУБАЦИОННЫХ ЯИЦ АКВАХЕЛАТНЫМИ РАСТВОРАМИ ГЕРМАНИЯ И СЕЛЕНА НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА МОЛОДНЯКА ПЕРЕПЕЛОВ

Резюме

Применение аквахелатных растворов селена и германия в процессе инкубации яиц в зависимости от дозы влияет на резистентность и иммунологическую реактивность организма перепелов в период раннего постнатального развития.

Summary

Application akvahelatae solutions selenium and germanium during the incubation of the eggs in a dose-dependent effect on the resistance and immune reactivity quail during early postnatal development.

Поступила в редакцию 26.03.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Перепеловодство – одна из сельскохозяйственных отраслей птицеводства, которая занимает особое место в производстве продуктов питания для человека [1]. Современные методы ведения промышленного птицеводства предусматривают интенсивные технологии, которые не всегда соответствуют физиологическим особенностям разных видов птицы, в частности, перепелов. Ухудшение экологической ситуации, увеличение количества стресс-факторов стали причиной снижения резистентности организма птицы и развития иммунодефицитного состояния. Одной из самых больших проблем, существующих в птицеводстве, является снижение жизнеспособности птицы, особенно в раннем возрасте [2,9].

Ранний период развития птицы, особенно перепелов, характеризуется невысокой реактивностью организма, которая в то же время сопровождается низкой функциональной активностью клеточного звена иммунитета [7]. Важным моментом решения этой проблемы является стимуляция иммунофизиологических механизмов, лежащих в основе становления и формирования

местного и системного иммунитета организма птицы в критические периоды постнатального развития. Согласно данным литературы [10] на раннем постнатальном онтогенезе перепелов есть определенные этапы дефинитивного развития, которые включают в себя биологические периоды и критические фазы развития. Начальный этап роста и развития состоит из двух фаз:

–вылупление (первые сутки), характеризующееся физиологическим процессом перехода организма птицы на легочный тип дыхания;

–адаптация (до 5 суток), в процессе которой происходит полное использование желтка, как главного органа кровотока. Исследование клеточного звена иммунитета на ранних этапах развития молодняка перепелов является актуальным вопросом, так как изучено недостаточно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории кафедры нормальной и патологической физиологии животных Белоцерковского национального аграрного

университета. Для исследования использовали перепелов (*Coturnix coturnix japonica*) одно- и пятисуточного возраста, породы фараон мясного направления продуктивности. Параметры микроклимата помещения, где содержалась птица, отвечали зооигиеническим нормам и были одинаковыми для всех групп.

Для исследования были сформированы шесть подопытных и одна контрольная группа по 150 голов в каждой. Яйца, из которых были выведены перепела трех подопытных групп в период инкубации, обрабатывались аквахелатным раствором селена в дозах: I – 0,05 мкг / кг; II – 0,5 мкг / кг; III – 1,0 мкг / кг, а трех подопытных групп – раствором аквахелата германия в дозах (мкг / кг яиц): I – 2,5; II – 5,0; III – 7,5. Яйца, из которых выведены перепела контрольной группы, обрабатывались дистиллированной водой.

Для проведения биохимических исследований материал отбирали от перепелов, выведенных из обработанных яиц в одно- и пятисуточном возрасте. Из каждой группы отбирали по 5 особей в одно и то

же время суток для исключения суточных колебаний физико-биохимических параметров. Кровь отбирали после декапитации птицы после применения эфирного наркоза. В крови исследовали Т и В-лимфоциты при помощи эритроцитарных диагностикумов, а ФА (фагоцитарная активность) и ФЧ (фагоцитарное число) псевдоэозинофилов с добавлением суточной культуры *Staphilococcus aureus*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из данных таблицы 1 видно, что у перепелов суточного возраста во 2-й подопытной группе количество Т и В-лимфоцитов в крови составляло 35,0±0,55 и 21,2±0,20, что на 8,7 % и 3,9 % соответственно больше, чем в контроле (p<0,05). Установлено также увеличение количества Т-хелперов в крови птицы этой группы на 7,6 % и снижение Т-супрессоров на 10,2% по сравнению с контрольной группой (p<0,05), что подтверждает иммуномодулирующее воздействие исследуемого раствора аквахелата германия в дозе 5,0 мкг/кг.

Таблица 1– Динамика Т и В-лимфоцитов, их субпопуляций, фагоцитарной активности и фагоцитарного числа псевдоэозинофилов в крови перепелов при влиянии аквахелатного раствора германия, % (n=5)

Показатели крови, единицы измерения	Перепела односуточного возраста			
	группа			
	1-опытная	2-опытная	3-опытная	контроль
	доза аквахелатного раствора Ge в мкг/кг			
	2,5	5,0	7,5	-
Т-лимф. %, (CD 3)	33,6±0,51	35,0±0,55*	29,4±0,81*	32,2±0,73
Т-хелп. %, (CD 4)	24,4±0,24	25,4±0,51*	21,8±0,37*	23,6±0,40
Т-супрес. %, (CD 8)	11,0±0,32	10,6±0,24*	13,2±0,37*	11,8±0,37
НК-н. киллеры, % (CD 16)	16,6±0,24	17,2±0,20*	14,0±0,45	15,2±0,58
В-лимф. %, (CD 22)	20,6±0,40	21,2±0,20*	19,8±0,20	20,4±0,24
фагоцитарная активность, %	34,4±0,40	36,0±0,32*	33,2±0,20*	34,4±0,40
фагоцитарное число, ед.	6,54±0,51	6,62±0,58*	6,38±0,37	6,44±0,24
	перепела пятисуточного возраста			
Т-лимф. %, (CD 3)	38,8±0,37	40,2±0,37**	37,8±0,20	38,4±0,24
Т-хелп. %, (CD 4)	28,8±0,20	29,4±0,24*	27,8±0,20	28,2±0,37
Т-супрес. %, (CD 8)	13,8±0,37	13,6±0,40	14,8±0,58	14,4±0,24
НК-н. киллеры, % (CD 16)	18,8±0,37	19,0±0,71	17,8±0,37	18,4±0,40
В-лимф. %, (CD 22)	24,0±0,45	25,6±0,51*	23,0±0,32	23,8±0,37
фагоцитарная активность, %	45,6±0,24	46,60±0,24**	43,8±0,37	44,8±0,37
фагоцитарное число, ед.	8,86±0,40	8,98±0,37**	8,66±0,40	8,76±0,51

Примечание – * P < 0,05; ** P < 0,01 по сравнению с контрольной группой

При этом количество НК-клеток также достоверно увеличивалось во 2-й подопытной группе на 13,1 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Такая динамика, вероятно, указывает на положительное стимулирующее влияние хелатного раствора германия на клеточный иммунитет птицы. Однако в 3-й подопытной группе наблюдали противоположную динамику: количество Т-лимфоцитов было достоверно меньшим на 8,7 % по сравнению с контролем, а также отмечено уменьшение количества Т-хелперов на 7,7 %. При этом установлено увеличение количества Т-супрессоров в крови перепелов на 11,8 %. Снижение количества Т-хелперов при росте количества Т-супрессоров в крови цыплят данного возраста может свидетельствовать о снижении антителогенеза и развитие иммунодепрессивного состояния (ИДС) организма птицы.

В то же время в первой подопытной группе указанный раствор аквахелата германия оказывал несколько меньшее стимулирующее влияние на пролиферацию, дифференциацию и созревание Т-лимфоцитов и их субпопуляций, что свидетельствует лишь о тенденции к увеличению данных показателей в крови птенцов подопытной группы по сравнению с контролем.

У перепелов 5-суточного возраста во 2-й подопытной группе количество Т и В-лимфоцитов в крови достоверно увеличилось на 4,6 % ($p < 0,01$) и 7,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Такая активация сопровождается достоверным увеличением Т-хелперов на 4,2 % ($p < 0,05$), которые активируют лимфопозы и дифференциацию клеток и имеет тенденцию к уменьшению Т-супрессоров.

Поскольку В-лимфоциты являются предшественниками клеток, продуцирующих антитела, увеличение их количества в крови перепелов в период становления иммунной системы является признаком повышенной способности их организма к активному синтезу антител. Нами установлено, что как на первые, так и на пятые

сутки исследований в 1-й и 3-й подопытной группе достоверной разницы по сравнению с контролем не было. При этом во 2-й подопытной группе было достоверное увеличение в 1-суточном возрасте на 3,9%, а на 5-е сутки на 7,5% по сравнению с контрольной группой.

Известно, что одним из основных механизмов неспецифической резистентности организма является фагоцитарная активность микро- и макрофагов [8]. У птицы в процессе фагоцитоза активно участвуют псевдоэозинофилы, способные к амёбовидному движению [7]. Нами установлено, что фагоцитарная активность псевдоэозинофилов в крови перепелов 1 и 5-суточного возраста выросла во 2-й подопытной группе на 4,6 % ($p < 0,05$) и 4,0 % ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с контролем, а также установлено соответственное увеличение фагоцитарного индекса на 2,8 % ($p < 0,05$) и 2,5 % ($p < 0,01$). Однако в третьей подопытной группе у односуточных перепелов отмечали достоверное уменьшение фагоцитарной активности на 3,5 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), а у 5-суточных перепелов – лишь тенденцию к уменьшению этого показателя. Фагоцитарная активность у перепелов первой подопытной группы была на уровне контроля. В то же время следует отметить, что с возрастом упомянутые показатели существенно улучшаются, как в опытных так и в контрольной группах.

По результатам наших исследований (таблица 2) установлено, что раствор аквахелата селена оказывал меньшее влияние на показатели неспецифической резистентности организма перепелов. Так, в первой подопытной группе перепелов как 1– 5-суточного возраста количество Т- и В-лимфоцитов и их классов, в крови птицы не имели достоверной разницы по сравнению с контролем, что вероятно, свидетельствует о слабом стимулирующем влиянии на неспецифическую резистентность организма перепелов аквахелатного раствора селена в исследуемой дозе. Одна-

ко в крови перепелов 1–5-суточного возраста во второй подопытной группе установлено достоверное увеличение количества Т-лимфоцитов на 6,8 % ($p < 0,05$) и 6,7 % ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с контролем.

Вместе с тем, следует отметить увеличение количества В-лимфоцитов в крови перепелов в односуточном возрасте на 6,8 % и в пятисуточном возрасте на 9,2 %

по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Также установлено увеличение количества Т-хелперов в крови перепелов односуточного возраста на 7,1 % и тенденцию к их увеличению в пятисуточном возрасте. Установлено, что Т-хелперы стимулируют пролиферацию и дифференциацию Т- и В-лимфоцитов, которые повышают способность к активному синтезу антител [4,5,12].

Таблица 2 – Динамика Т- и В-лимфоцитов, их субпопуляций, фагоцитарной активности и фагоцитарного числа псевдоэозинофилов в крови перепелов при влиянии аквахелатного раствора селена, % (n=5)

Показатели крови, единицы измерения	Перепела односуточного возраста			
	группа			
	1-опытная	2-опытная	3-опытная	Контроль
	доза аквахелатного раствора Se в мкг/кг			
	0,01	0,05	0,1	–
Т-лимф. %, (CD 3)	33,2±0,37	34,4±0,40*	28,8±0,37**	32,2±0,73
Т-хелп. %, (CD 4)	23,8±0,2	24,4±0,51	22,2±0,37*	23,6±0,40
Т-супрес. %, (CD 8)	10,8±0,37	11,0±0,32	13,0±0,32*	11,8±0,37
НК-н. киллеры, % (CD 16)	16,2±0,37	16,6±0,37	14,4±0,40	15,2±0,58
В-лимф. %, (CD 22)	21,0±0,45	21,8±0,37*	20,0±0,32	20,4±0,24
фагоцитарная активность, %	34,6±0,40	35,6±0,24*	33,0±0,32*	34,4±0,40
фагоцитарное число, ед.	6,52±0,37	6,58±0,37*	6,34±0,24*	6,44±0,24
	перепела пятисуточного возраста			
Т-лимф. %, (CD 3)	39,2±0,58	41,0±0,63**	38,0±0,32	38,4±0,24
Т-хелп. %, (CD 4)	29,2±0,49	30,2±0,66*	27,2±0,37	28,2±0,37
Т-супрес. %, (CD 8)	13,4±0,51	13,2±0,49	15,2±0,58	14,4±0,24
НК-н. киллеры, % (CD 16)	18,2±0,37	18,6±0,51	17,4±0,24	18,4±0,40
В-лимф. %, (CD 22)	24,4±0,68	26,0±0,71*	22,4±0,68	23,8±0,37
фагоцитарная активность, %	45,2±0,20	46,8±0,37**	44,0±0,32	44,8±0,37
фагоцитарное число, ед.	8,82±0,37	9,0±0,45**	8,6±0,51	8,76±0,51

Примечание – * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой

В 3-й подопытной группе у односуточного молодняка перепелов отмечено достоверное уменьшение общего количества Т-лимфоцитов на 10,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Число Т-супрессоров в крови птицы возросло на 10,1 %, а Т-хелперов уменьшилось на 6,0 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Известно, что Т-супрессоры способны подавлять активность Т-хелперов, таким образом подавляя продукцию антител [3,6,11].

При этом количество НК-клеток («натуральные киллеры») во всех подопытных группах не претерпела достоверных изменений по сравнению с контрольной группой.

Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов как на первые, так и на пятые сутки в первой подопытной группе не имела достоверной разницы по сравнению с контролем. Однако во второй подопытной группе перепелов в одно и 5-тисуточном возрасте мы наблюдали достоверное уве-

личение фагоцитарной активности на 3,5 % ($p < 0,05$) и 4,5 % ($p < 0,01$) по сравнению с контролем после обработки яиц аквахелатным раствором селена в дозе 0,05 мкг/кг.

Способность псевдоэозинофилов поглощать чужеродные тела (фагоцитарное число псевдоэозинофилов) также была больше, чем в контроле в 1-суточном возрасте на 2,1 %, а в крови перепелов пяти суточного возраста – на 2,7 %. При этом в третьей группе в односуточном возрасте наблюдали уменьшение фагоцитарной активности псевдоэозинофилов в крови перепелов на 4,1 % и фагоцитарного числа – на 1,6 % по сравнению с контрольной

группой ($p < 0,01$), а на пятые сутки у перепелов этой группы была отмечена лишь тенденция к уменьшению исследуемых показателей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимальными дозами аквахелатных растворов селена и германия для обработки инкубационных перепелиных яиц являются 0,05 мкг/кг и 5,0 мкг/кг яиц соответственно. В указанных дозах аквахелатные растворы селена и германия проявляют стимулирующее влияние на клеточное звено специфического иммунитета, способствуют увеличению защитных свойств организма птицы.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Жеребов, М.Є. Перепелівництво в Україні / М.Є. Жеребов // *Ефективне птахівництво: спеціалізований журнал з питань птахівництва*. – Обухів: ТОВ фірма «Поліграфінко», 2011. – № 8 – С. 34–38.
- 2 Задорожній, А.А. Вплив екологічно безпечних препаратів на ембріональний і постембріональний розвиток м'ясних курчат / А.А. Задорожній, В.М. Туринський // *Сучасне птахівництво*. – 2011. – №10 (107). – С. 21–23.
- 3 Імунологія: підручник / Л.В.Кузнецова, В.Д.Бабаджан, Н.В.Харченко та ін.; за ред. Л.В.Кузнецова, В.Д.Бабаджан, Н.В.Харченко. – Вінниця: ТОВ «Меркьюрі Поділля», 2013. – 560с.
- 4 Колотницький, В.А. Стан Т- і В-системи імунітету курчат у різні вікові періоди при згодовуванні метіфену і метіфену з аскорбіноювою кислотою на тлі вакцинації / В.А. Колотницький, В.Г. Стояновський, В.М. Гунчак // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*. – Львів, 2009. – Т. 11, №2 (41), ч. 2. – С. 160–165.
- 5 Коломісць, І.А. Дослідження функціонування Т та В-ланки імунітету бройлерів на тлі вакцинації при застосуванні симбіотика «Праймікс – біонорм – П» й розчину високочистого натрію гідрохлориду // *Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету*. – Дніпропетровськ, 2013. – № 1 (31). – С. 84 – 85.
- 6 Кузнецової, Л.В. Клінічна та лабораторна імунологія. Національний підручник // Л.В Кузнецової, В.М.Фролова, В.Д. Бабаджана – К. ООО «Поліграф плюс», 2012. – 922с.
- 7 Матюшников, В.М. Естественная резистентность сельскохозяйственной птицы. – М.: Агропромиздат., 1985. – 159 с.
- 8 Пигаревский, В. Е. Новое в учении о фагоцитозе и неспецифической резистентности организма // *Арх. пат.* – 1977. – № 7. – С. 51–55.
- 9 Устинов, В. Н. Стресс – факторы в промышленном птицеводстве // *Птицеводство*. — 1976. – № 6. – С. 15–19.
- 10 Freman, В.М. Development of Avian Embryo / В.М. Freman, М.А. Vinee – London: Chapman and Hall, 1974. – P. 348.
- 11 Sung-Hyen Lee, Hyun S. Lillehoj, Robert A. Heckert, et al. // Immune enhancing properties of Safflower leaf (*Carthamus tonctorius*) on chicken lymphocytes and macrophages // *J. Poult. Sci.*, 45: 147–151, 2008.
- 12 Jondal, M. Surface markers on human T and B-lymphocytes: A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep blood cells / M. Jondal, G. Holm, H. Wigzell // *J. exp.Med.* – 1972. – Vol. 136, № 2. – P. 207–215.

Левкивская Н.Д., кандидат ветеринарных наук

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, г. Львов

ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПРИ ЛЕЧЕНИИ КАТАРАЛЬНОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ

Резюме

Изучение показателей неспецифической резистентности организма телят, больных катаральной бронхопневмонией, показали, что при катаральной бронхопневмонии телят из носовых истечений выделена следующая микрофлора: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*. Микрофлора, выделенная из носовых истечений телят, больных катаральной бронхопневмонией, малочувствительна к антибиотикам. У телят, больных катаральной бронхопневмонией, отмечают увеличение количества лейкоцитов на 2,98 г/л, что указывает на наличие воспалительного процесса. В лейкограмме увеличивается количество палочкоядерных нейтрофилов, что указывает на сдвиг "ядра" влево. Заболевание телят катаральной бронхопневмонией вызывает существенные изменения в организме животных: ЦИК в 1,8 раза по сравнению со здоровыми животными; концентрация Ig G на 3,9 мг/мл больше по сравнению с телятами контрольной группы. При катаральной бронхопневмонии телят 5% аэрозольная обработка их эмульсией прополиса проявляет высокую терапевтическую эффективность.

Summary

The researches of indicators of nonspecific resistance of calves for catarrhal pneumonia showed that it was leak such microflora from the nostrils in calves, which suffer from catarrhal bronchopneumonia: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*. Microflora isolated from leaks from the calves' nostrils, which have been catarrhal pneumonia patients, is insensitive to antibiotics. Calves suffering from catarrhal bronchopneumonia noted an increase in the number of leukocytes to 2.98 g/l, which indicates the presence of inflammation. It is increased number of band neutrophils in leucogram. Lymphocyte count is greater than 21.3%, compared to clinically normal calves indicates that the shift of the "core" to the left. Diseases of calves catarrhal bronchopneumonia causes significant changes in animals: CIC 1.8-fold compared with healthy animals; concentration of Ig G was 3.9 mg/ml increase compared to calves in the control group. The treatment of calves suffering from catarrhal bronchopneumonia with 5% aerosol of propolis emulsion exhibits a high therapeutic efficacy.

Поступила в редакцию 22.04.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные болезни телят являются одними из актуальных проблем ветеринарной медицины, которые регистрируются стационарно. Среди них наиболее распространена катаральная бронхопневмония.

Бронхопневмония телят наносит значительный экономический ущерб животноводству, в частности, от уменьшения производительности труда, гибели поголовья и затрат на лечение [1]. В хозяйствах Украины разных форм собственности в первые 8 недель жизни телят погибает до

15%. Это обуславливается низким уровнем их резистентности из-за недостаточного и неполноценного кормления, неудовлетворительного содержания коров в период стельности, что приводит к нарушению эмбрионального развития, снижения содержания уровня иммуноглобулинов, иммунокомпетентных клеток, витаминов, микро- и макроэлементов в молозиве и молоке [2].

Значительный вклад в изучение вопросов этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики бронхопневмонии животных внесли ученые Л.Г. Зама-

рин, Ю.В. Головизнин, В.М. Данилевский, Пахомов Г.А., Федюк, В.И. Шкуратова И.А., Гертман А.М., Папуниды К.Х., Шабунин С.В. и многие другие, работы которых не потеряли своей актуальности до настоящего времени. Как известно, бронхопневмония является заболеванием полиэтиологической природы.

В рамках реализации национального проекта развития АПК активно ведется работа по международному обмену генофонда животных и использованию лучших мировых селекционных достижений в области животноводства. Особую актуальность эта проблема имеет на территориях, куда был завезен скот зарубежной селекции. Однако состояние иммунологической резистентности и распространенности бронхопневмонии телят, полученных от импортированных животных, на территории страны изучено крайне недостаточно.

Причиной возникновения данного заболевания является недостаточность иммунных механизмов защиты организма, активизация условно патогенных микроорганизмов, которые стационарно находятся в дыхательных путях здоровых животных. Решающее значение в этиологии бронхопневмонии приобретает снижение реактивности и сенсбилизация организма телят условно-патогенными микроорганизмами [3, 4]. При низких защитных свойствах организма животных условно-патогенные микробы из слизистой оболочки дыхательных путей проникают в подлежащие ткани, где меняют природу с усилением их патогенности, а своим токсическим действием вызывают воспалительные реакции слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

Одним из «пусковых механизмов» поражения животных катаральной бронхопневмонией является снижение иммунологической реактивности организма, которому способствуют такие факторы, как иммунодефицит организма животных, а также неблагоприятные условия окружа-

ющей среды (антисанитарные условия содержания, повышенная влажность помещений и др.) [5, 6, 7]. Указанные факторы значительно снижают устойчивость организма животных к инфекционным заболеваниям, особенно к таким, возбудителями которых являются условно-патогенная микрофлора.

В начале заболевания у телят отмечают клинические симптомы катарального бронхита, в частности, повышение температуры до 40°C, глухой, болезненный кашель, который в дальнейшем становится слабым и влажным. Постоянно наблюдают слизисто-гнойные, серо-белого цвета истечения из ноздрей.

Воспаление в легких и бронхах характеризуется накоплением серозного экссудата, который заполняет бронхи и альвеолы и является питательной средой для развития бактерий. Бактерии выделяют токсины, которые повышают проницаемость стенки капилляров, поступают в кровь и вызывают токсическое действие.

В настоящее время для лечения бронхопневмонии телят применяют антибиотики [8, 9, 10], но в результате частого применения большинство бактерий становятся резистентными к препаратам бензилпенициллина и тетрациклинов. Поэтому актуальной проблемой лечения животных при бронхопневмониях бактериальной этиологии является поиск новых антимикробных средств высокой терапевтической эффективности.

Ветеринарная наука предложила огромный арсенал средств и методов борьбы с бронхолегочной патологией, который постоянно пополняется. Однако терапевтическая эффективность различных способов лечения заболеваний органов дыхания требует постоянного совершенствования. В этой связи научно-разработанная система диагностических и лечебно-профилактических мероприятий при бронхолегочной патологии телят, родившихся особенно от коров зарубежной селекции, является актуальной и перспективной задачей

ветеринарной науки и практики.

Цель работы – изучить состояние неспецифической резистентности и эффективность аэрозольной обработки телят, больных катаральной бронхопневмонией, 5% эмульсией прополиса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на животноводческой ферме ООО «Правда» Бродовского района Львовской области. Материалом исследования была 5% эмульсия прополиса, терапевтическое действие которой изучали на телятах, больных катаральной бронхопневмонией. Телят подбирали по принципу аналогов с учетом возраста и тяжести клинического состояния животных. У больных телят проводили клинический осмотр, измеряли температуру, определяли количество носовых выделений, наличие кашля, перкуссией грудной клетки в области легких определяли зону поражения.

Проводили бактериологическое исследование выделений. Истечения из носа высевали на молочно-солевой агар, на сывороточный МПА с глюкозой, кровяной МПА с 0,5% глюкозой, среду Эндо.

Определение патогенности *Staphylococcus aureus*, выделенных у больных телят, проводили биопробой на 1–2-суточных цыплятах [11]. Патогенность *Streptococcus pneumoniae* определяли биопробой на белых мышках [12].

У выделенных микроорганизмов определяли чувствительность к 5% эмульсии прополиса.

Для лечения телят, больных катаральной бронхопневмонией, применяли аэрозольную обработку 5% эмульсией прополиса. Телят помещали в камеру для аэрозольной обработки объемом 18 м³ и с помощью аэрозольного генератора (САГ-1) обрабатывали 5% эмульсией прополиса при экспозиции 40 минут. Обработку проводили ежедневно в течение 7 дней подряд.

Наиболее близким к использованной

нами методике является способ лечения и профилактики бронхопневмонии у телят и поросят [13]. Недостатком способа является сложность осуществления, высокая концентрация препарата в крови и отсутствие данного препарата на отечественных рынках.

Заявленная нами методика лечения устраняет недостатки аналога и обеспечивает высокий лечебный эффект, нормализацию показателей крови и выздоровление животных после 2-кратного применения при меньшей концентрации препарата прополиса, что является экономически выгодным для хозяйств.

Лечебное средство для аэрозольного распыления дополнительно обогащают витамином С, а в качестве препарата прополиса используют 5% эмульсию в дистиллированной воде. При таком составе средство для аэрозольного распыления в камере объемом 18 м³ находится в соотношении 5% эмульсия прополиса – 900 мл, 20% раствор глюкозы – 20 мл, витамин С 10% – 10 мл [4].

У больных животных до начала и после лечения определяли состояние неспецифической резистентности организма по количеству лейкоцитов, эритроцитов, показателей лейкограммы.

Для исследования у телят кровь брали из яремной вены. Показатели лейкограммы определяли в мазках крови, окрашенных по методу Романовского-Гимза.

Уровень циркулирующих иммунных комплексов проводили методом преципитации с использованием полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 Дальтон [14]. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, который заключается в том, что иммуноглобулины диффундируют в агар, содержащий моноспецифическую сыворотку, образуя кольцо преципитации, ширина которого прямо пропорциональна количеству иммуноглобулинов [15].

Терапевтическую эффективность 5% эмульсии прополиса определяли по клини-

ческому состоянию животных и результатам бактериологических и гематологических показателей крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты бактериологических исследований истечений из ноздрей представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели бактериологических исследований носовых истечений у телят, больных бронхопневмонией

Состояние животных	Количество проб	Микрофлора носовых истечений				
		<i>St. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>St. epidermidis</i>	<i>Esch. coli</i>	<i>Str. pneumoniae</i>
больные бронхопневмонией	7	2	2	1	1	1
после лечения	3	–	–	3	–	–

Анализ результатов таблице 2 показывает, что из экссудата из ноздрей у телят, больных катаральной бронхопневмонией, выделяли *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*.

Следует отметить, что из истечений из ноздрей клинически здоровых телят выделяли только *Staphylococcus epidermidis*. Следовательно, *Staphylococcus epidermidis* представляет облигатную форму бактерий, которая не вызывает токсического действия.

Результаты исследований, представ-

ленные в таблице 2, показывают, что выделенные культуры *Staph. aureus* принадлежат к патогенным, так как проявляют плазмокоагуляционное и гемолитическое действие, а *Str. pneumoniae* вызывает гемолиз эритроцитов, что указывает на высокую токсичность. Также при проведении биопробы отмечалась гибель лабораторных животных. По ферментативным свойствам культуры, выделенные из истечений из ноздрей телят, больных бронхопневмонией, отвечали виду *E.coli*. Культуры *Ps. aeruginosa* образовывали пиоцианин, вызывали гемолиз, сбраживали глюкозу и не расщепляли сахарозу и лактозу.

Таблица 2 – Биохимические свойства выделенной микрофлоры

Выделенные культуры	гемолиз	Ферментативные свойства					коагуляция плазмы	образование пиоцианина
		лактоза	сахароза	индол	сероводород	глюкоза		
<i>Staph. aureus</i>	2	–	–	–	–	–	2	–
<i>Ps. aeruginosa</i>	2	–	–	–	–	2	–	2
<i>Str. pneumoniae</i>	1	1	–	–	–	–	–	–
<i>E. coli</i>	8	4	–	4	–	–	–	–

Полученные результаты дают основание утверждать, что выделенные культуры микроорганизмов, особенно *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, является высокопатогенными.

В выделенных культурах микроорганизмов определяли чувствительность к антибактериальным препаратам. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Чувствительность микрофлоры, выделенной из носовых выделений телят, больных бронхопневмонией, к антибактериальным препаратам

Препараты	<i>Staph.aureus</i> , n=15		<i>E.coli</i> , n=10		<i>Str.pneumoniae</i> , n=5	
	чувств.	не чувствит.	чувств.	не чувствит.	чувств.	не чувствит.
Неомицин	10	5	4	6	–	5
Эритромицин	–	15	–	10	–	5
Оксацилин	5	10	4	6	–	5
Стрептомицин	10	5	5	5	–	5
Полимиксин	10	5	–	10	–	5
Цефалексин	15	–	5	5	–	5
Тетрациклин	8	7	5	5	–	5
Байтрил	13	2	4	6	–	5
Амоксицилин	4	11	–	10	–	5
Клоксацилин	5	10	–	10	–	5
Левомецетин	11	4	4	6	–	5

Анализ результатов исследований свидетельствует, что к 11 антибактериальным препаратам высокой чувствительности культуры *Staph. aureus*, *E. coli* и *Str. pneumoniae* не обнаружено. Из 15 культур *Staph. aureus* чувствительными были к левомецетину – 11; неомицину – 10; байтрилу – 13; цефалексину – 15; полимиксину – 10. *Str. pneumoniae* были резистентными ко всем антибактериальным препаратам. Чувствительность культур *E. coli* к анти-

бактериальным препаратам была значительно ниже, к отдельным препаратам из 10 культур чувствительными были от 1 до 7 культур. Следует отметить, что отдельные культуры *Staph. aureus* и *E. coli* одновременно были резистентными к 5–7 антибактериальным препаратам.

Результаты исследований гематологических показателей крови телят представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Лейкограмма крови телят, больных катаральной бронхопневмонией (M±m, n=7)

Группа животных	Лейкограмма									
	лейкоциты, Г/л	эритроциты, Т/л	базофилы	эозинофилы	миелоциты	нейтрофилы			лимфоциты	моноциты
						юные	палочкоядерные	сегментоядерные		
контрольная	6,0±0,38	6,52±0,6	0	2,28±0,18	–	–	2,8±0,48	21,71±1,91	67,0±4,4	4,1±0,42
исследуемая	8,98±0,78*	5,6±0,5	1,25±0,25	5,8±0,79*	–	–	5,6±0,5*	20,4±4,6	45,7±2,3*	5,1±0,34

Примечание – *P<0,001 по отношению к контрольной группе

Результаты анализа таблицы 4 свидетельствуют, что у телят, больных катаральной бронхопневмонией, увеличивается количество лейкоцитов на 2,98 г/л, что указывает на наличие воспалительного процесса. В лейкограмме отмечается увеличение количества эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов. Количество лимфоцитов было на 21,3% больше по сравнению с клинически здоровыми телятами.

В настоящее время при лечении телят, больных катаральной бронхопневмонией, применяют антибиотики группы пенициллина и тетрациклина. Однако длительное их применение привело к сниже-

нию терапевтической эффективности вследствие образования антибиотикорезистентных штаммов бактерий. Это стало основанием для поиска более эффективных средств лечения животных при бактериальных инфекциях, в том числе и при катаральной бронхопневмонии телят.

Применяя 5% эмульсию прополиса для аэрозольной обработки телят, больных катаральной бронхопневмонией, параллельно с бактерицидным действием на микрофлору нами установлено положительное влияние на нормализацию гематологических показателей крови телят (таблица 5).

Таблица 5 – Лейкограмма крови телят, больных катаральной бронхопневмонией, после аэрозольной обработки 5% эмульсией прополиса (M±m; n=7)

Группа животных	Лейкограмма									
	лейкоциты, Г/л	эритроциты, Т/л	базофилы	эозинофилы	миелоциты	нейтрофилы			лимфоциты	моноциты
						юные	палочкоядерные	сегментоядерные		
контрольная группа	6,0±0,38	6,52±0,6	0	2,28±0,18	–	–	2,8±0,48	21,71±1,91	67,0±4,4	4,1±0,42
исследуемая группа	6,45±1,4	6,1±0,44	1,3±0,3	3,6±0,4*	–	–	3,4±0,4	22,8±2,5	67,57±1,96	4,4±0,5

Примечание – *P < 0,02 по отношению к началу лечения

Количество лимфоцитов у телят, больных катаральной бронхопневмонией, уступало животным контрольной группы. Проведенное лечение животных с применением 5% аэрозольной обработки эмульсией прополиса способствовало достоверному приближению клеточных показателей эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов к показателям животных контрольной группы.

Показатели неспецифической резистентности телят, больных катаральной бронхопневмонией, определяли по классам иммуноглобулинов, циркулирующим им-

мунным комплексам (таблица 6).

ЦИК – важное звено иммунитета, направленное на нейтрализацию биологической активности антигенов. В небольшой концентрации иммунные комплексы постоянно присутствуют в сыворотке крови здоровых животных, которая считается нормальной. Это является следствием постоянной стимуляции иммунной системы. Однако в отдельных случаях механизм вывода ЦИК нарушается, что приводит к избыточному накоплению циркулирующих иммунных комплексов и обуславливает патологию.

Таблица 6 – Показатели циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов в сыворотке крови телят, больных катаральной бронхопневмонией ($M \pm m$, $n=7$)

Группа телят	Ig G мг/мл	Ig M мг/мл	Ig A мг/мл	ЦИК, мМоль/л
контрольная	6,5±0,19	0,3±0,01	0,5±0,01	93,4± 4,0
исследуемая	10,4±0,43*	0,9±0,05*	0,8±0,01	168,0±3,1

Результаты исследований ЦИК в крови телят, больных катаральной бронхопневмонией, показали, что в сыворотке крови отмечается повышенный уровень ЦИК в 1,8 раза по сравнению со здоровыми. Важным фактором защиты организма являются иммуноглобулины классов А, М, G. У телят, больных катаральной бронхопневмонией, концентрация Ig G была на 3,9 мг/мл больше по сравнению с телятами контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что заболева-

ние телят сопровождается угнетением защитных сил организма исследуемых телят.

Результаты исследований ЦИК в крови телят, больных катаральной бронхопневмонией, после аэрозольной обработки (таблица 7) показали, что в сыворотке крови отмечается снижение уровня ЦИК в 1,6 раза по сравнению с данными больных животных. У животных после лечения концентрация Ig G была на 1,47 мг/мл больше по сравнению с больными телятами.

Таблица 7 – Показатели циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов в сыворотке крови телят после аэрозольной обработки 5%-ой эмульсией прополиса ($M \pm m$, $n=7$)

Группа телят	Ig G мг/мл	Ig M мг/мл	Ig A мг/мл	ЦИК, мМоль/л
до лечения	10,4±0,43*	0,9±0,05*	0,8±0,01	168,0±3,1
после лечения	11,87±1,29	0,9±0,1	1,05±0,01	106,75±5,04

ВЫВОДЫ

1 При катаральной бронхопневмонии телят из истечений из ноздрей выделена микрофлора: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*.

2 Микрофлора, выделенная из носовых истечений телят, больных катаральной бронхопневмонией, малочувствительна к антибиотикам.

3 У телят, больных катаральной бронхопневмонией, отмечено увеличение количества лейкоцитов на 2,98 г/л, что указывает на наличие воспалительного процесса. В лейкограмме увеличивается количество палочкоядерных нейтрофилов, что указывает на сдвиг «ядра» влево.

4 Заболевание телят катаральной бронхопневмонией вызывает существенные изменения в организме животных, в

частности, в крови отмечается повышение защитных функций организма животных, ЦИК в 1,8 раза по сравнению со здоровыми животными; иммуноглобулинов классов А, М, G, в частности, концентрация Ig G была на 3,9 мг/мл больше по сравнению с телятами контрольной группы.

5 При катаральной бронхопневмонии телят аэрозольная обработка их 5% эмульсией прополиса проявляет высокую терапевтическую эффективность: в крови отмечается снижение уровня ЦИК в 1,6 раза по сравнению с данными у больных животных. У животных после лечения концентрация Ig G на 1,47 мг/мл больше по сравнению с больными телятами. В процессе применения эмульсии прополиса отмечено уменьшение срока лечения на 7 суток, повышение опорной способности организма, нормализация показателей крови.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Конопелько, П. Я. Профилактика бронхопневмонии телят на промышленных комплексах // П. Я. Конопелько, А. П. Соколов // Проблемы интенсификации сельскохозяйственного производства: Тез. докл. научно-практич. конф. – Гродно, 1993. – С. 141.
- 2 Сторчак, Ю.Г. Аналіз засобів, що використовуються з метою підвищення резистентності телят до збудників інфекційних захворювань / Ю.Г. Сторчак // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. Львів, 2013 Т.15, № 3(57). – Ч.1. – С. 211–220.
- 3 Терлецький, Б.М., Стадник, А.М., Демидюк, С.К. Аспекти патогенезу, вдосконаленої діагностики та лікування гострої бронхопневмонії у телят / Б.М. Терлецький, А.М. Стадник // Вісн. Білоцерк. ДАУ Зб. Наук. Праць – Біла Церква, 2006. – С. 193–202.
- 4 Левківська, Н.Д., Левківський, Д.М. Спосіб лікування телят, хворих на катаральну бронхопневмонію // Патент на корисну модель №48886 12 квітня 2010р. Бюл. №7. – С. 1–8.
- 5 Сахнюк, В. В. Неспецифічна резистентність корів при А-гіповітамінозі / В. В. Сахнюк // Наукові дослідження в галузі вет. медицини: матеріали Міжнародн. науково-практ. конф. молодих вчених, [Харків 1–2 квіт. 1997р.] – С. 116–117.
- 6 Карпуть, І. М. Імунний дефіцит і хвороби молодняка / І. М. Карпуть // Неінфекц. патологія тварин: матеріали наук.-практ. конфер.–[Біла Церква 7–8 черв. -1995р.] – С. 127–128.
- 7 Маслянюк, Р.П. Початкові стадії імунної відповіді на антигенну стимуляцію тварин – імунний статус / Р.П. Маслянюк, Т.Р. Маслянюк, Т.С. Матвійшин // Науково-теоретичний журнал «Біологія тварин». – Львів, 2004, – Т.6(1–2). – С. 44–48.
- 8 Мельник, В. В. Профілактика та лікування неспецифічної бронхопневмонії у телят із застосуванням цитомединів з легень великої рогатої худоби: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.01 / В. В. Мельник. — Біла Церква, 2001.–16 с.
- 9 Левченко, В. І. Комплексний метод лікування телят, хворих на бронхопневмонію / В. І Левченко, А. В. Розумнюк, В. П. Москаленко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Вип. 2. – Біла Церква, 2003. – С. 133–140.
- 10 Канюка, О. І. Ефективність ступеневої антибіотикотерапії при катаральній бронхопневмонії телят-сисунів / О. І. Канюка, О. Павлів, Н. В. Слюсар // Вісник Сумського нац. аграр. ун-ту.– 2007.–Вип. 8(19).– С. 47–49.
- 11 Высоцкий, А.Э. Справочник по бактериологическим методам изысканий в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская.– Издательство Министерства сельского хозяйства Республики Беларусь.–2002. – С. 521–522.
- 12 Высоцкий, А.Э. Справочник по бактериологическим методам изысканий в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, З.Н. Барановская.– Издательство Министерства сельского хозяйства Республики Беларусь.–2002.– С. 715–716.
- 13 Хахов, Л.А., Хахов, А.Л., Тяпкина, Е.В. Способ лечения и профилактики бронхопневмонии у телят и поросят // Патент РФ № 2353376, 27 апреля 2009 г.
- 14 Krapf, F.E. Circulating immune complexes in HIV – infected persons / F.E. Krapf // Klin Wochenschr. – 1990. – № 3. – 68(6). – P. 299–302.
- 15 Маслянюк, Р.П. Основи імунобіології / Р.П. Маслянюк – Львів: Вертикаль, 1999.– 472 с.

УДК 619:611.018:619:612.017:576.8:636.8

Кисера Я.В., научный руководитель, доктор ветеринарных наук, профессор
Сторчак Ю.Г., аспирант

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени
С.З. Гжицкого, г. Львов

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРОЛИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ДИПЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Резюме

Представлены результаты гистологических исследований органов иммунной системы кроликов после введения инактивированной вакцины против диплококковой инфекции из штамма возбудителя *Streptococcus pneumoniae*. В результате исследований были установлены структурные изменения в органах иммунной системы (тимус, брыжеечный лимфатический узел, селезенка).

По гистологическому исследованию брыжеечных лимфатических узлов обнаружили увеличение количества вторичных лимфоидных узелков с объемными герминативными центрами, в периферической зоне которых локализуются малые и средние лимфоциты.

Выявлены структурные изменения в белой и красной пульпе, а в несколько меньшей степени – в стро-ме селезенки. Отмечается увеличение в объеме вторичных лимфатических узелков с хорошо развитыми реактивными центрами, содержащими значительное количество В-лимфобластов.

Капилляры коры тимуса окружены достаточно толстой и непрерывной базальной мембраной и сло-ем нефенестрированных эпителиоцитов и окружены отростками эпителиоретикулоцитов, отделяющих перикапиллярное пространство. Наблюдается увеличение количества Т-лимфоцитов и макрофагов.

Summary

The article includes the results of histological researches of the rabbits immune system after injection of inactivated vaccine against the diplococcal infection made from a strain of the pathogen *Streptococcus pneumoniae*. The researches have determined the structural changes in the organs of the immune system (thymus, mesenteric lymph nodes and spleen).

Histological researches of mesenteric lymph nodes showed an increase in the number of secondary lymphoid nodules with germinal center volume. Small and medium lymphocytes are localized in the peripheral zone.

There are structural changes in white and red pulp, and to a lesser extent in the stroma of the spleen. There is an increasing volume in the secondary lymph nodules with well developed reactive centers which contain a significant number of B-lymphoblasts.

Thymus cortex capillaries are surrounded with thick enough and continuous basement membrane and also a layer of epithelial cells, surrounded with unfenestrated epithelioreticulocytes spikes that separate pericapillary space. The number of T-lymphocytes and macrophages is increased.

Поступила в редакцию 22.04.2015г.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема повышения сохранности молодняка сельскохозяйственных животных, поддержания иммунного статуса и общей неспецифической резистентности взрослого поголовья рассматривается в настоящее время, как актуальная и комплексная, в которой наряду с такими факторами, как окружающая среда и возбудитель, важная роль отводится иммунологической реакции организма [3, 4, 7].

Иммунная система животных первой реагирует на воздействие различных биотических и абиотических факторов. Ее роль заключается, прежде всего, в удалении из организма экзо- и эндогенных антигенов. Для нормального функционирования организма и его иммунной системы необходима антигенная нагрузка.

Одним из механизмов вывода антигена из организма является образование иммунного комплекса. Иммунные комплек-

сы – это физиологический продукт реакции антиген-антитело, который является частью защитных иммунных механизмов при различных инфекционных и незаразных заболеваниях. Он отражает гуморальный иммунный ответ на развитие инфекции и в значительной мере определяет напряженность антигенной нагрузки на иммунную систему [1].

Проведенные исследования по разработке инактивированной вакцины против диплококковой инфекции из местного штамма возбудителя *Streptococcus pneumoniae* показали повышение содержания лейкоцитов, лимфоцитов, уровень IgG, IgM и ЦИК в крови [4, 7].

Цель исследований – установить структурные и функциональные особенности органов иммунной системы на тканевом и клеточном уровнях у кроликов после введения инактивированной вакцины против диплококковой инфекции из штамма возбудителя *Streptococcus pneumoniae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились на кафедре нормальной и патологической морфологии и судебной ветеринарии Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого. Для опыта по принципу аналогов было подобрано 8 кроликов двухмесячного возраста, из которых было сформировано 2 группы (1 контрольная и 1 опытная). Животным опытной группы вводили инактивированную вакцину, изготовленную из местного штамма возбудителя *Streptococcus pneumoniae*. Вакцину вводили внутримышечно дважды с интервалом 14 дней в дозе по 0,5 мл при первом введении и по 1,0 мл при втором введении. Контрольной группе животных вместо вакцины вводили физиологический раствор. Забой животных проводили на 45-й день после вакцинации.

Вскрытие животных проводили по методу Шора [2]. Для гистологических исследований отбирали кусочки тимуса,

селезенки, брыжеечных лимфатических узлов сразу после забоя животных и фиксировали в 10–12% охлажденном растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин по схеме, предложенной И. Роксиним и Л.Б. Левинсоном [6]. Зафиксированные кусочки толщиной 2 мм промывали в воде 30 мин, после чего подсушивали на фильтровальной бумаге и проводили через спирты (75, 96 и 100° для обезвоживания и обезжиривания в течение суток в каждом из спиртов). Затем пропитывали растворителем парафина ксилолом 1,5 часа. Из ксилола кусочки переносили в насыщенный раствор парафина в ксилоле на 1,5 ч при температуре 37°С. После чего их помещали в фарфоровые чашки и заливали расплавленным парафином с последующим быстрым охлаждением в холодильной камере. После затвердевания парафина кусочки нарезали и наклеивали на деревянные кубики. Парафиновые срезы изготавливали на санном микротоме МС-2. Толщина срезов не превышала 10 мкм. Для выявления морфологии клеток и тканей применяли окрашивание гематоксилином Караца и эозином, а также метиленовым-зеленым и пиронином G по Браше [5, 8, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования тимуса контрольной группы животных засвидетельствовали разделение тимических долек на корковое и мозговое вещество, граница между которыми достаточно четкая. Подавляющее большинство частиц сохраняет свою полигональную форму.

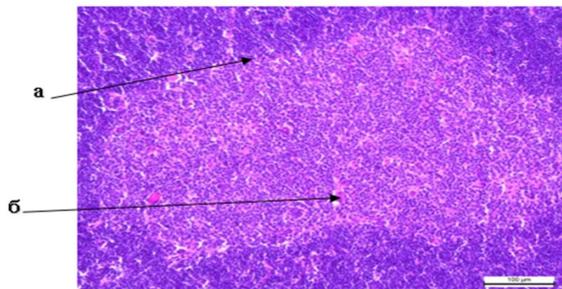
Лимфоидные элементы мозгового вещества размещены несколько рыхло, вследствие чего мозговое вещество окрашивается светлее, чем корковое вещество (рисунок 1).

Клеточный состав мозгового вещества представлен Т-лимфоцитами на разных стадиях дифференцировки эпителиоретикулоцитами, тучными клетками, макрофагами. В центре мозгового вещества визуализируются единичные тельца Гассала,

образованные ретикулярными эпителиоцитами. В просвете телец Гассалья располагаются фрагменты фагоцитированных клеток.

В корковом веществе компактно размещены малые и средние лимфоциты в окружении макрофагов и эпителиоретикулоцитов. Подкапсулярная зона коркового вещества плотно заполнена Т-лимфобластами, иногда видны митозы последних.

Междольковые и внутридольковые артерии, а также дуговые ветви внутридольковых артерий, сосуды микроциркуляторного русла умеренно наполнены кровью. Капилляры коры окружены достаточно толстой и непрерывной базальной мембраной и слоем нефенестрированных эпи-



Основное вещество соединительнотканых трабекул содержит умеренное количество фибробластов и коллагеновых волокон, гистиоцитов, макрофагов и лимфоцитов.

По гистологическому исследованию брыжеечных лимфатических узлов кроликов контрольной группы выявлена четкая архитектура паренхиматозных и стромальных структур. Внешне лимфатический узел покрыт соединительнотканной капсулой, от которой в глубину органа отходят тонкие трабекулы, которые анастомозируют между собой в глубоких частях лимфатического узла. Стромальные сосуды умеренно расширены, наполнены кровью. Ретикулярная ткань и структурные элементы, лежащие в ее петлях, составляют паренхиму лимфатического узла, которая делится на корковое и мозговое вещества.

В корковом веществе четко визуализируются шарообразные структуры – вторичные лимфоидные узелки, окруженные

телиоцитов и окружены отростками эпителиоретикулоцитов (гемотимусный барьер), которые отделяют перикапиллярное пространство. В перикапиллярном пространстве увеличивается количество Т-лимфоцитов и макрофагов. Значительная часть корковых капилляров переходит непосредственно в подкапсулярные венулы. Меньшая часть из них разветвляется в мозговое вещество и на границе с корковым веществом переходит в посткапиллярные венулы, отличающиеся от капсулярных венул высоким призматическим (фенестрированным) эндотелием. Через сосуды мозгового вещества происходит умеренная миграция Т-лимфоцитов в кровоток.

Рисунок 1– Тимус кролика контрольной группы
а) четкая граница между мозговым и корковым веществом тимуса
б) небольшое количество эпителиоретикулоцитов
Гематоксилин-эозин x 200

плоскими ретикулярными клетками. Герминативные центры небольшие, образованные пролиферирующими лимфобластами, содержащими единичные детритные клетки и макрофаги. В периферической зоне вторичных лимфатических фолликулов локализуются малые и средние лимфоциты. Паракортикальная зона плотно заселена Т-лимфоцитами, микроокружения для которых создают интердигитирующие клетки (рисунок 2).

Цитоплазма интердигитирующих клеток слабобазофильная, формирует тонкие отростки. Кое-где визуализируются единичные иммунобласты – крупные клетки с базофильной цитоплазмой, которые способны трансформироваться в малые лимфоциты с цитотоксическими свойствами.

Между слоями ретикулоэндотелиоцитов, покрывающих вторичные лимфатические узелки и мозговые тяжи с одной стороны и трабекулы и капсулу с другой, располагаются синусы лимфатического узла.

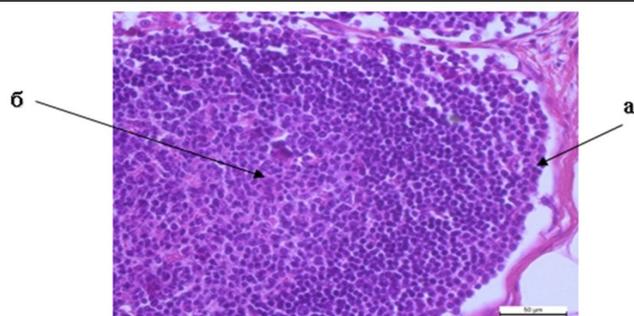


Рисунок 2– Брыжеечный лимфатический узел кролика контрольной группы
а) вторичный лимфатический узелок
б) реактивный центр, плотно заполненный лимфобластами
Гематоксилин-эозин x 400

Последние умеренно расширены, наполнены кровью, содержат синусные макрофаги, малые и средние лимфоциты, единичные нейтрофильные гранулоциты.

Паренхима селезенки контрольной группы животных включает два функциональных отдела: белую и красную пульпу, между которыми четко видна граница. В белой пульпе селезенки визуализируются вторичные лимфатические узелки с небольшими реактивными центрами, содер-

жащими В-лимфобласты, макрофаги, детритные и ретикулярные клетки. Центральная артерия располагается по периферии вторичного лимфатического узелка. Периартериальная зона плотно заполнена Т-лимфоцитами, а также содержит умеренное количество интердигитирующих клеток, содержащих в своей цитоплазме умеренное количество пиронинофильных веществ (рисунок 3).

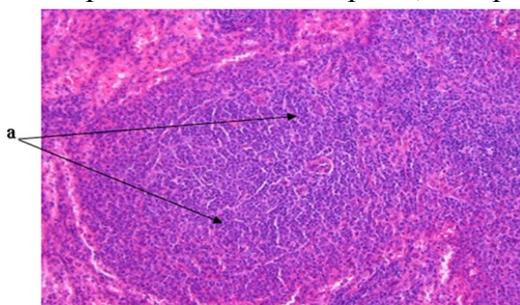


Рисунок 3 – Селезенка кролика контрольной группы
а) лимфатические узелки белой пульпы плотно заполнены клеточными элементами
Гематоксилин-эозин x 200

В мантийной зоне компактно располагаются В-лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и незначительное количество Т-лимфоцитов. Краевая зона окружена синусоидными гемокапиллярами.

Центральная часть периартериальных лимфоидных узлов содержит умеренное количество В-лимфоцитов и плазматических клеток, макрофагов, а в периферийной зоне – имеющиеся Т-лимфоциты. В периартериальных лимфоидных узлах – единичные макрофагальные комплексы и лимфоцитарно-плазмоцитарные макрофагальные комплексы. Визуализируются малые и средние лимфоциты, располагающиеся попарно или небольшими группами, а также ретикулярные клетки.

Между скоплениями лимфоидной ткани располагаются структурные элементы красной пульпы, представленные веноз-

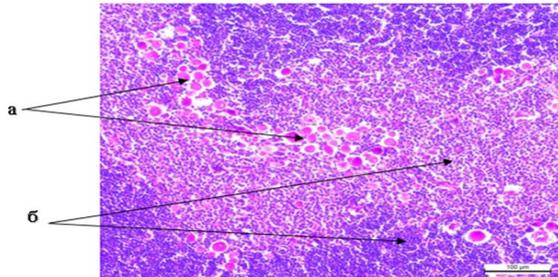
ными синусами и селезеночным (пульпарными) тяжами. Синусы красной пульпы выстланы эндотелиоцитами веретенообразной формы, содержат эритроциты, макрофаги. В венозных синусах селезенки визуализируются клеточные конгломераты из макрофагов и Т-лимфоцитов. В пульпарных тяжах располагаются В-лимфоциты, макрофаги, единичные моноциты, которые мигрируют из крови.

По исследованию тимуса опытных животных установлено, что клеточный состав мозгового вещества представлен Т-лимфоцитами на разных стадиях дифференцировки, тучными клетками, макрофагами, эпителиоретикулоцитами.

Отмечается пролиферация эпителиоретикулоцитов и их трансформация, в результате чего их количество увеличивается (рисунок 4). Также несколько возрастает

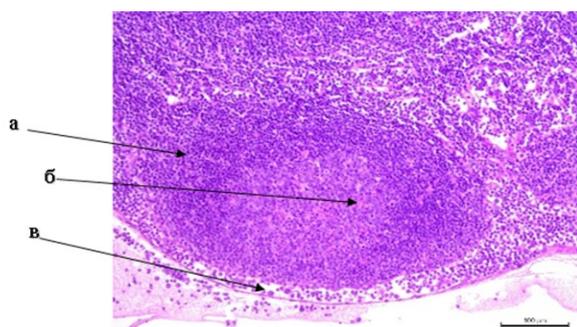
количество макрофагов. Кое-где визуализируются некротизированные лимфоциты или их остатки. В отдельных участках мозгового вещества визуализируются единичные нейтрофильные гранулоциты и эозинофилы.

В корковом веществе компактно размещены малые и средние лимфоциты в окружении макрофагов и эпителиоретикулоцитов. Кое-где визуализируются лимфо-



Следует отметить, что капилляры коры окружены достаточно толстой и непрерывной базальной мембраной и слоем нефенестрированных эпителиоцитов и окружены отростками эпителиоретикулоцитов, которые отделяют перикапиллярное пространство. В перикапиллярном пространстве увеличивается количество Т-лимфоцитов и макрофагов. Большая часть корковых капилляров переходит непосредственно в подкапсулярные вены. Меньшая часть из них разветвляется в мозговое вещество и на границе с корковым веществом переходит в посткапиллярные вены, отличающиеся от капсулярных венул высоким призматическим эндотелием.

Исследованиями брыжеечных лимфатических узлов кроликов опытной группы обнаружено увеличение количества вторичных лимфоидных узелков с объемными герминативными центрами. В герминатив-



циты с некротическими изменениями.

Вокруг них увеличивается количество макрофагов, а также отмечается пролиферация Т-лимфоцитов. Появляются активированные эпителиоретикулоциты со светлым ядром и значительной площадью цитоплазмы. Подкапсулярная зона коры плотно заполнена Т-лимфобластами, довольно часто регистрируются митозы последних.

Рисунок 4 – Тимус кролика опытной группы

- а) увеличение количества эпителиоретикулоцитов*
 - б) плотное заполнение лимфоцитами мозгового и коркового вещества*
- Гематоксилин-эозин x 200**

ных центрах увеличивается количество В-лимфобластов, часто встречаются фигуры митозов.

Кое-где визуализируются детритные клетки, макрофаги. В периферической зоне вторичных лимфатических узелков локализируются малые и средние лимфоциты.

Паракортикальная зона плотно заселена Т-лимфоцитами, микроокружения для которых создают интердигитирующие клетки. Ядро в интердигитирующих клетках неправильной формы, его центральная зона заполнена эухроматиновыми участками с краевым размещением гетерохроматина. Цитоплазма интердигитирующих клеток слабобазофильная, формирует тонкие отростки. Кое-где визуализируются единичные иммунобласты – крупные клетки с базофильной цитоплазмой, которые способны трансформироваться в малые лимфоциты с цитотоксическими свойствами (рисунок 5).

Рисунок 5 – Брыжеечный лимфатический узел кролика опытной группы

- а) вторичный лимфатический узел с реактивным центром*
 - б) умеренное количество лимфобластов*
 - в) неплотно заполнена лимфоцитами паракортикальная зона*
- Гематоксилин-эозин x 200**

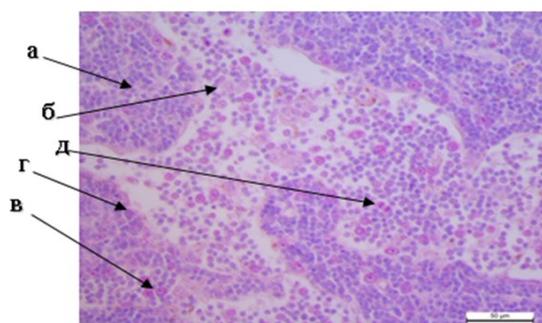
Мякушевые тяжи содержат значительное количество активированных В-лимфоцитов, которые дифференцируются в плазмобласты и плазматические клетки.

Кое-где визуализируются макрофаги. Количество плазматических клеток значительное, цитоплазма интенсивно пиронинофильна, ядро располагается эксцентрично, гетерохроматин располагается в виде спиц колеса.

Наблюдается обеднение клеточными элементами паракортикальной зоны и реактивных центров отдельных вторичных лимфатических узелков. Регистрируются некротические изменения Т-лимфоцитов, реже – плазматических клеток.

Между слоями ретикулоэндотелиоцитов, покрывающих вторичные лимфатические узелки и мозговые тяжи с одной стороны и трабекулы и капсулу с другой, располагаются синусы лимфатического узла. Последние умеренно расширены, наполнены кровью, содержат значительное количество синусных макрофагов, малых и средних лимфоцитов, плазмциты, единичные нейтрофильные гранулоциты.

Стромальные сосуды расширены, переполнены эритроцитами. Эндотелий капилляров набухает, иногда наблюдается пролиферация эндотелиоцитов. Отдельные эндотелиоциты испытывают некротичес-



В мантийной зоне компактно и достаточно плотно располагаются В-лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и незначительное количество Т-лимфоцитов. Краевая зона окружена несколько расширенными синусоидными гемокапиллярами. Отдельные лимфатические узелки белой пульпы неплотно заполнены клеточ-

кие изменения.

Некоторые коллагеновые волокна стромы неравномерно набухают. Видны периваскулярные инфильтраты, образованные тучными клетками, гистиоцитами, малыми и средними лимфоцитами и нейтрофилами. Основное вещество соединительной ткани трабекул, особенно вокруг сосудов, набухлое, пропитанное белками плазмы.

При исследовании селезенки животных опытной группы выявлены структурные изменения в белой и красной пульпе, а в несколько меньшей степени – в строме органа. В первую очередь отмечается увеличение в объеме вторичных лимфатических узелков с хорошо развитыми реактивными центрами, содержащими значительное количество В-лимфоцитов. Растет количество макрофагов, имеющих дендритные и ретикулярные клетки (рисунок 6).

Вокруг центральной артериолы, которая локализуется по периферии лимфатического узелка, располагается периартериальная зона, плотно заполненная Т-лимфоцитами и содержащая умеренное количество интердигитирующих клеток, имеющих в своей цитоплазме пиронинофильные вещества.

Рисунок 6 – Селезенка кролика опытной группы

- а) лимфатические узелки селезенки*
- б) незначительное количество лимфоидных элементов*
- в) незначительное количество плазматических клеток*
- г) незначительное количество макрофагов*
- д) митозы В-лимфоцитов*

Метиленовый-зеленый и пиронин G по Браше x 400

чными элементами.

Между скоплениями лимфоидной ткани располагаются структурные элементы красной пульпы, представленные венозными синусами и селезеночным (пульпарным) тяжем. Синусы красной пульпы выстланы эндотелиоцитами веретенообразной формы, переполнены эрит-

роцитами, макрофагами, некоторые из них принимают участие в фагоцитозе старых и поврежденных эритроцитов и тромбоцитов.

Отдельные эндотелиоциты неравномерно набухают, некоторые из них – с некротическими изменениями. В венозных синусах селезенки визуализируются клеточные конгломераты из макрофагов и Т-лимфоцитов, которые иногда контактируют с эндотелиоцитами. В пульпарных тяжах возрастает количество В-лимфоцитов и плазматических клеток, макрофагов, визуализируются моноциты, которые мигрируют из крови.

Строма селезенки представлена капсулой, от которой радиально в толщу органа отходят трабекулы. Стромальные структуры, кроме соединительнотканых элементов (коллагеновых, эластичных и ретикулярных волокон, основного вещества и клеток фибробластических дифферонов), также содержат гладкие миоциты, макрофаги, лимфоидные элементы, тканевые базофилы, сосуды и нервные элементы. Трабекулярные артерии и вены, а также пульпарные вены умеренно расширены и наполнены кровью. Основное вещество соединительной ткани, особенно вокруг венозных сосудов, несколько разрыхлено и набухшее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При гистологическом исследовании брыжеечных лимфатических узлов кроликов на 45-е сутки после введения вакцины обнаружили увеличение количества вторичных лимфоидных узелков с объемными герминативными центрами. В герминативных центрах растет количество В-лимфобластов. Это указывает на наличие в организме процесса бласт-трансформации В-лимфоцитов. В периферической зоне вторичных лимфатических фолликулов локализируются малые и средние лимфоциты. Выявлены структурные изменения в белой и красной пульпе и в несколько меньшей степени – в строме селезенки. Отмечается увеличение в объеме вторичных лимфатических узелков с хорошо развитыми реактивными центрами, содержащими значительное количество В-лимфобластов. Растет количество макрофагов, что указывает на реакцию иммунной системы на введение антигена в организм. Капилляры коры тимуса окружены достаточно толстой и непрерывной базальной мембраной и слоем нефенестрированных эпителиоцитов, окружены отростками эпителиоретикулоцитов, которые отделяют перикапиллярное пространство. В перикапиллярном пространстве увеличивается количество Т-лимфоцитов и макрофагов, то есть проявляется микро- и макрофагальная реакция организма.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Бутенко, Г.Е. *Циркулирующие иммунные комплексы при активных формах туберкулеза* / Г. Е. Бутенко, А.П. Античко, В.С. Самараш // *Проблемы туберкулеза*. – 1988. – № 8. – С. 48–56.
- 2 Горальський, Л.П. *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології* /Л.П. Горальський – Житомир: Полісся, 2005. – 286 с.
- 3 Кісера, Я.В. *Користь та шкода різних ад'ювантів при проведенні специфічної профілактики тварин* /Я.В. Кісера, Ю.Г. Сторчак // *Журнал «Сільський господар»*. – Львів, 2014. – № 1–2. – С. 27–31.
- 4 Кісера, Я.В. *Розробка інактивованої вакцини проти диплококової інфекції* /Я.В. Кісера, Ю.Г. Сторчак // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького*. – Львів, 2014. – Т.16. – № 2 (59). – Ч.1. – С. 111–117.
- 5 Меркулов, Г.А. *Курс патологоанатомической техники*. / Г.А. Меркулов. – Изд-во «Медицина», Ленинградское отделение. – 1996. – 422 с.
- 6 Роксин, Г.И. *Микроскопическая техника* /Г.И. Роксин, Л.Б. Левинсон. «Советская наука». – Москва. – 1957. – 469 с.

7 Сторчак, Ю.Г. *Інактивована аутовакцина з місцевого штаму Streptococcus pneumoniae проти диплококової інфекції /Ю.Г. Сторчак //Науковий вісник Національного університету біоресурсів та природокористування України. – Київ, 2014. – № 201. – Ч.1. – С. 147–152.*

8 *Цветной атлас по цитологии, гистологии и микроскопической анатомии /Вольфганс Кюнель, пер. С англ. Е. Погосян. – М.: АСТ: Астрель. – 2007. – 533 с.*

9 Шишков, В.П. *Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных / В.П. Шишков, Н.А. Налетов. – М.: Колос. – 1980. – 440 с.*

УДК 636.6.087.72:636.612.1

Нимещенко Н.П., доктор ветеринарных наук, профессор

Порошинская О.А., кандидат ветеринарных наук

Саморай Н.Н., кандидат биологических наук, доцент

Стовбецкая Л.С., кандидат ветеринарных наук

Белоцерковский национальный аграрный университет, Белая Церковь

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ТРАНСФЕРАЗ И СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В КРОВИ ПЕРЕПЕЛОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИЗИНА, МЕТИОНИНА И ТРЕОНИНА

Резюме

В результате проведенных исследований отмечено, что использование лизина, метионина и треонина способствует повышению содержания незаменимых, заменимых и общего количества аминокислот в крови перепелов.

Summary

As a result of the performed researches it is stated, that use of lysine, methionine and threonine promotes increasing of essential and non-essential amino acids contain in quail blood serum.

Поступила в редакцию 26.03.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из главных факторов в определении продуктивности перепелов является скорость синтеза белка, которая, в свою очередь, лимитируется соотношением основных компонентов корма, в частности, аминокислот. Известно, что рационы птицы, составленные на основе кормов растительного происхождения в большинстве случаев дефицитны по таким незаменимым аминокислотам, как лизин, метионин и треонин [1, 2]. В связи с этим многими исследователями было предложено использовать различные аминокислоты синтетического и микробиологического происхождения в качестве добавок к основному рациону. Они положительно влияют на рост и

развитие молодняка, а также продуктивность взрослой птицы.

Лизин – одна из необходимых аминокислот, которая влияет на процессы кроветворения, в частности, на формирование эритроцитов и уровень белка в плазме крови, мышечной ткани и печени. Эта аминокислота необходима не только для биосинтеза белка и хромопротеидов, но и участвует в регуляции активности хроматина и нормализации биохимического состава крови [3].

Аминокислота метионин – это универсальный поставщик метильных групп (-CH₃) в реакциях метилирования. Превращаясь в «активный метионин» при помощи фермента S-аденозинтрансферазы, он ме-

тилирует биогенные амины, гормоны и фосфолипиды клеточных мембран [18]. Исследованиями [5] установлено, что обогащение метионином рационов птицы способствует увеличению содержания белков в печени, а в плазме крови – незаменимых аминокислот. Кроме того, известно, что метионин обладает гепатопротекторными свойствами, не допуская жировой дистрофии этого органа.

В настоящее время треонин считают третьей лимитирующей аминокислотой в рационах птицы, которая особенно необходима для молодняка перепелов [6]. Эта аминокислота участвует в процессах синтеза белков скелетных мышц, коллагена, эластина, а также антител, пищеварительных ферментов и многих других важных для организма веществ [7].

В процессах обмена веществ и синтеза белков важную роль играют трансферазы. Это группа внутриклеточных ферментов, к которым относят аспартатамиотрансферазу (АсАТ) и аланинаминотрансферазу (АлАТ) [8]. На уровень активности АсАТ и АлАТ их соотношение в сыворотке крови влияют различные факторы. Активность вышеназванных ферментов возрастает в несколько раз вследствие разрушения клеток под влиянием различных патологических факторов (воздействие токсинов, болезней различной этиологии). Однако их активность может возрастать до определенной величины и вследствие алиментарного воздействия, особенно под влиянием потребления полноценного кормового белка [9]. Изменение активности трансфераз также связано с физиологическим состоянием организма. Например, усиленное использование незаменимых аминокислот в синтезе белка в молодом организме птицы и для образования других метаболитов белкового обмена (интенсивная яйцекладка) способствует росту активности АлАТ. Однако отмечено, что по мере старения птицы активность этого энзима уменьшается [10]. В научной литературе имеются противоречивые сообщения о влиянии аминокислот на активность дан-

ных ферментов. Так, при добавлении DL-метионина в комбикорма кур-несушек установлено уменьшение активности АсАТ и повышение АлАТ в сыворотке крови [11], а при введении в рацион кур-несушек микорма (аминокислотно-ферментный препарат) активность обоих ферментов повышалась [12].

Поэтому **целью** исследований было определение активности ферментов АсАТ и АлАТ и содержания аминокислот в сыворотке крови перепелов после применения комплекса аминокислот лизина, метионина и треонина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на перепелах породы фараон в возрасте с односуточного по 60-е сутки. Для проведения опытов по методу аналогов были сформированы 4 группы: 1 контрольная, 2, 3, 4 подопытных по 100 голов в каждой. Птица всех четырех групп получала одинаковый рацион, а перепелам подопытных групп кроме этого, в течение 50 дней добавляли в комбикорма комплексы аминокислот лизина, метионина, треонина в разных дозах [13].

Активность ферментов в сыворотке крови перепелов каждой группы исследовали до применения аминокислот, а также на 25, 40 и 55-е сутки опыта. Определяли ферментативную активность по методу Райтмана-Френкеля [14], а содержание аминокислот в сыворотке крови исследовали с помощью автоматического анализатора марки Т 339 (Чехия) [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения активности ферментов сыворотки крови перепелов после применения лизина, метионина и треонина приведены в таблице 1.

При исследовании сыворотки крови перепелов до применения аминокислот установлено, что активность всех ферментов не имела достоверных различий по группам и составила в среднем: АсАТ –

3,47±0,04 ммоль/л×ч и АлАТ – 0,22±0,02 ммоль/л×ч. На 25 день эксперимента активность АсАТ во всех четырех группах колебалась в пределах 2,93–3,11 ммоль/л×ч при среднем значении 3,05±0,06 ммоль/л×ч, а на 40-е и 55-е сутки наших исследований

наблюдали незначительное повышение активности данного фермента во всех группах перепелов, однако эта разница не была достоверна по сравнению с контрольной группой.

Таблица 1 – Динамика активности трансфераз в сыворотке крови перепелов, ммоль/л×ч, n=6

Показатель	1 контрольная	Подопытные группы		
		2	3	4
предопытный период (10-е сутки)				
АсАТ	3,54±0,02	3,35±0,03	3,51±0,03	3,48±0,05
АлАТ	0,25±0,05	0,23±0,02	0,18±0,01	0,23±0,02
подопытный период				
25-е сутки				
АсАТ	3,09±0,02	3,09±0,02	3,11±0,1	2,93±0,11
АлАТ	0,29±0,05	0,28±0,08	0,32±0,01	0,31±0,03
45-е сутки				
АсАТ	3,76±0,23	4,02±0,08	3,81±0,07	3,81±0,06
АлАТ	0,21±0,01	0,18±0,02	0,15±0,01*	0,15±0,01*
55-е сутки				
АсАТ	3,54±0,16	3,57±0,09	3,68±0,13	3,69±0,07
АлАТ	0,19±0,02	0,16±0,09	0,16±0,02	0,19±0,01

Примечание – *p<0,05 по сравнению с перепелами контрольной группы

Тенденция к увеличению активности АлАТ может свидетельствовать о некотором увеличении его влияния в реакциях трансаминирования, которые катализируются аспарагиновой трансаминазой. Можно сделать предположение, что такой рост связан с более высокой интенсивностью роста молодняка в 3-й и 4-й подопытных группах перепелов [13].

Незначительное увеличение активности АлАТ отмечалось на 25-й день исследования от 0,29±0,05 ммоль/л×ч в контрольной и до 0,31±0,03–0,32±0,01 ммоль/л×ч в подопытных группах. На 40-е сутки эксперимента наблюдали достоверное снижение активности энзима в 3 и 4 подопытных группах на 28,6 % (p<0,05) по сравнению с контролем.

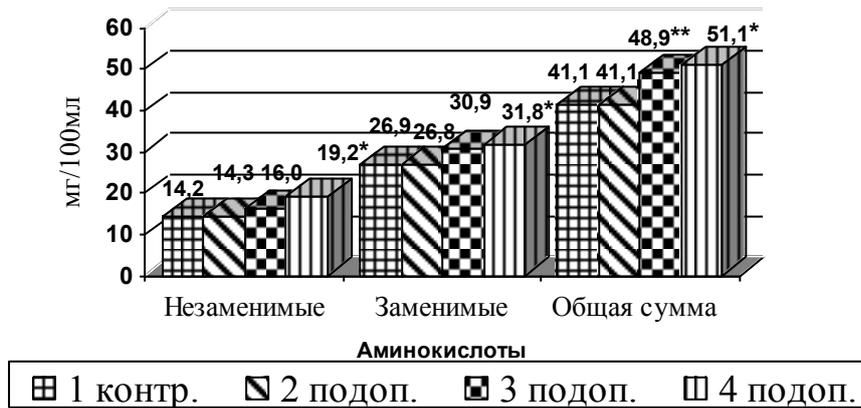
Известно, что в организме животных и перепелов в том числе роль аминокислот определяется их участием в синтетических, регуляторных и энергетических процессах. Поэтому содержание аминокислот в тканях перепелов зависит от многих фак-

торов, в частности, от возраста, физиологического состояния, скорости их утилизации и биосинтеза, а также от качества корма, который поступает в организм. Изменение содержания аминокислот в сыворотке крови перепелов при скормливания лизина, метионина и треонина приведена на рисунке 1.

Проведенные эксперименты показали, что добавление к рациону перепелов лизина, метионина и треонина способствовали увеличению содержания незаменимых аминокислот в сыворотке крови птицы 3 и 4 подопытных групп на 26,8 % (p<0,01) и на 34,9 % (p<0,05) по сравнению с контролем.

В результате исследований нами также было установлено увеличение содержания заменимых аминокислот в сыворотке крови перепелов подопытных групп. При этом наблюдалось достоверное повышение их концентрации в сыворотке крови птицы 4 подопытной группы на 18,2 % (p<0,05) по сравнению с контролем.

Общее количество аминокислот в сы-



Примечание – * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по сравнению с перепелами контрольной группы
Рисунок 1 – Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови перепелов

воротке крови перепелов подопытных групп была несколько больше, чем в контроле. В частности, в 3-й группе этот показатель составил $48,96 \pm 1,04$ мг/100 мл ($p < 0,01$), а в 4-й – $51,08 \pm 2,05$ ($p < 0,05$), что было соответственно на 18,8 – 24,0 % выше, чем в контроле ($41,19 \pm 1,34$ мг/100 мл). Содержание свободных аминокислот крови изучали и другие исследователи, которые установили, что, по-видимому, условия кормления влияют не только на уровень их общего пула, но и на концентрацию отдельных аминокислот, что свя-

зано с доступностью последних в процессе расщепления белка [16]. В частности, при использовании лизина и метионина в рационах цыплят-бройлеров установлено повышение уровня лизина и общей суммы аминокислот в сыворотке крови, что способствовало более интенсивному синтезу белка в их организме и в результате – повышению суточных приростов птицы [17].

При скармливании комплекса незаменимых аминокислот у перепелов повысилось содержание треонина и метионина в сыворотке крови (таблица 2).

Таблица 2 – Содержание свободных незаменимых аминокислот в сыворотке крови перепелов, мг/100 мл, $M \pm m$, 55-е сутки

Аминокислота	1 контрольная	Подопытные группы		
		2	3	4
лизин	$1,23 \pm 0,07$	$1,72 \pm 0,14$	$3,09 \pm 0,09^{**}$	$3,21 \pm 0,6^*$
гистидин	$0,87 \pm 0,02$	$1,41 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,02$	$0,93 \pm 0,01^*$
аргинин	$1,57 \pm 0,04$	$2,53 \pm 0,03$	$3,48 \pm 0,43^*$	$3,75 \pm 0,5^*$
треонин	$1,52 \pm 0,09$	$1,56 \pm 0,01$	$2,53 \pm 0,08^{**}$	$2,47 \pm 0,2^{**}$
цистин	$0,48 \pm 0,02$	$0,56 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,02^*$	$0,93 \pm 0,14^*$
валин	$2,03 \pm 0,06$	$2,41 \pm 0,02$	$1,83 \pm 0,08$	$2,21 \pm 0,17$
метионин	$0,32 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,04$	$0,73 \pm 0,05^*$	$0,72 \pm 0,06^{**}$
изолейцин	$1,58 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,02$	$1,81 \pm 0,06^*$	$1,17 \pm 0,13$
лейцин	$1,67 \pm 0,05$	$1,83 \pm 0,02$	$1,46 \pm 0,33$	$1,81 \pm 0,19$
фенилаланин	$2,06 \pm 0,15$	$1,11 \pm 0,01$	$1,68 \pm 0,03$	$2,01 \pm 0,13$

Примечание – * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по сравнению с перепелами контрольной группы

Достоверное увеличение их концентрации в сыворотке крови перепелов отмечали в 3-й и 4-й подопытных группах ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Уровень лизина в сыворотке крови был значительно выше у перепелов 3-й группы – $3,09 \pm 0,09$ мг/100 мл ($p < 0,01$), в 4-й – $3,21 \pm 0,6$ мг/100 мл ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($1,23 \pm 0,07$ мг/100мл).

Кроме того, в крови перепелов подопытных групп нами установлено достоверное увеличение количества цистина, ар-

гинина, гистидина, изолейцина.

Изменение содержания отдельных заменимых аминокислот в сыворотке крови перепелов при скармливании лизина, метионина и треонина приведены в таблице 3. Среди заменимых аминокислот следует обратить внимание на уровень глицина, который в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой был достоверно выше в 3-й и 4-й ($p < 0,05$) подопытных группах.

Таблица 3 – Содержание свободных заменимых аминокислот в сыворотке крови перепелов, мг/100 мл, $M \pm m$, $n=3$, 55-е сутки

Аминокислота	1 контрольная	Подопытные группы		
		2	3	4
орнитин	$0,14 \pm 0,03$	$0,52 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03^*$	$0,43 \pm 0,03^*$
глутамин	$6,54 \pm 0,04$	$6,61 \pm 0,13$	$7,51 \pm 0,7$	$6,75 \pm 1,17$
аспарагиновая кислота	$1,52 \pm 0,07$	$1,62 \pm 0,12$	$1,79 \pm 0,02^*$	$1,88 \pm 0,11^*$
серин	$4,78 \pm 0,02$	$4,92 \pm 0,05$	$6,81 \pm 0,73$	$6,71 \pm 0,53$
глутаминовая кислота	$1,84 \pm 0,04$	$1,69 \pm 0,02$	$2,15 \pm 0,17$	$3,16 \pm 0,05^{**}$
пролин	$2,64 \pm 0,04$	$2,08 \pm 0,03$	$1,61 \pm 0,09$	$1,7 \pm 0,09$
глицин	$2,64 \pm 0,05$	$2,24 \pm 0,04$	$3,81 \pm 0,06^*$	$3,25 \pm 0,03^*$
аланин	$4,77 \pm 0,02$	$4,88 \pm 0,03$	$4,32 \pm 0,13$	$5,1 \pm 0,47$
тирозин	$2,09 \pm 0,06$	$2,27 \pm 0,02$	$2,61 \pm 0,34$	$2,95 \pm 0,09^*$

Примечание – $*p < 0,05$; $**p < 0,01$ по сравнению с перепелами контрольной группы

Также нами отмечено повышение в сыворотке крови перепелов таких заменимых аминокислот, как тирозина ($p < 0,05$), орнитина ($p < 0,05$), аспарагиновой ($p < 0,05$) и глутаминовой кислот ($p < 0,01$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что добавление комплекса незаменимых аминокислот к рациону перепелов в разных дозах оказало существенное влияние на активность аспарат- и аланинаминотрансферазы сыворотки крови.

Добавление лизина, метионина и тре-

онина в рацион растущих перепелов способствовало увеличению общей концентрации свободных аминокислот крови в подопытных группах на 21,8–23,8 % по сравнению с контролем, а также увеличению количества как заменимых, так и незаменимых аминокислот. Увеличение содержания свободных аминокислот в крови перепелов способствовало их активному использованию в процессах синтеза белка как «резерва» пластического материала во время роста молодняка птицы, о чем свидетельствует увеличение массы тела перепелов подопытных групп по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Борисенко, В. Г. Оптимальне використання амінокислот у птахівництві та фактори його покращення в умовах України / В. Г. Борисенко, К. Ю. Ястребов // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб.– Бірки, 2006.– Вип. 58.– С. 207–209.
- 2 Фисинин, В. И. Нетрадиционные корма в рационах птицы: метод. рекомендации / В. И. Фисинин, К. В. Харламов, И. А. Егоров [и др.] // ВНИТИП. – 2005. – 45 с.
- 3 Urdaneta-Rincon, M. Muscle (pectoralis major) protein turnover in young broiler chickens fed graded levels of lysine and crude protein / M. Urdaneta-Rincon, S. Leeson // J. Poultry Science. – 2004. – Vol. 83. – № 11. – P. 1897–1903.
- 4 Pack, M. Sulfur amino acid requirement of broiler chicks from 14 to 38 days of age. 2. Economical evaluation / M. Pack, J.B. Schutte // Poultry Science – 1995. – Vol. 74. – № 7. – P. 488–493.
- 5 Baker, D. Factors affecting sulfur amino acid requirements of growing chickens / D. Baker // Poultry meat. – 1993. – Vol. 24. – № 8. – P. 52–54.
- 6 Ібатуллін, І. І. Продуктивні якості курчат-бройлерів за різних рівнів треоніну в комбікормі / І. І. Ібатуллін, Р. В. Мартинюк, О. В. Яценко // Вісник аграрної науки. – 2009. – № 8. – С. 40–43.
- 7 Azzam, M. The effect of supplemental l-threonine on laying performance, serum free amino acids, and immune function of laying hens under high-temperature and high-humidity environmental climates / M. M. Azzam, X. Y. Dong, P. Xie [et all] // J Appl Poult Res. – 2011. – Vol. 20. – P. 361–370.
- 8 Кравців, Р. Й. Активність амінотрансфераз сироватки крові дослідних бугайців при застосуванні в годівлі метіонатів і лізинатів мікроелементів / Р. Й. Кравців, В. В. Сенечин // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. – Львів, 2001. – Вип. 1–2. – С. 138–142.
- 9 Костюк, С.С. Вплив згодовування біологічно активних речовин рослинного походження на деякі біохімічні показники крові курей-несучок // Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2006. – Т. 8. – № 3, Ч. 2. – С. 77 – 79.
- 10 Бахова, З.А. Активность ферментов азотистого обмена в печени и стенке двенадцатиперстной кишки кур-несушек в зависимости от интенсивности яйцекладки и качества протеинового питания / Бахова З.А., Комарова А.Н // Физиология и биохимия белкового питания сельскохозяйственных животных: Научные труды. – Т. XIII – Боровск. – 1974. – С. 127–137.
- 11 Лісна, Б.Б. Метаболічні, продуктивні та репродуктивні показники курей-несучок за різного складу раціону: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 03.00.04 / Б.Б. Лісна. – Львів. – 2006. – 22 с.
- 12 Ніцценко, М.П. Фізіолого-біохімічне обґрунтування використання амінокислот та препарату Мікорм для підвищення продуктивності тварин: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спец. 03.00.13 / М.П. Ніцценко. – Київ, 2006. – 40 с.
- 13 Порошинська, О. А. Незамінні амінокислоти для продуктивної годівлі перепелів / О. А. Порошинська // Таринництво України.– 2010.– № 2.– С. 35–37.
- 14 Біохімічні методи дослідження крові тварин: метод. рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів деож. лабор. вет. медицини України, слухачів факультетів підвищ. кваліфікації та студентів фак. вет. медицини / В. І. Левченко, Ю. М. Новожицька, В. В. Сахнюк та ін. – Київ, 2004. – 104 с.
- 15 Овчинникова, Ю. А. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Ю. А. Овчинникова. – М.: Мир. – 1974. – 214 с.
- 16 Prieto, C. The use of plasma free amino acids for predicting the limiting amino acid in diets for chicks / C. Prieto, J. Aguilera, M. Lachica // J. Animal feed Sc. and techn. – 1994. – Vol. 47. – P. 151–164.
- 17 Фицев, А. И. Особенности белкового обмена у цыплят-бройлеров при включении в рацион вики / А. И. Фицев, Ф. В. Воронкова, С. Б. Булучевский // Ветеринарный консультант.– 2005. – № 6 – С.23–25.
- 18 Lubek, C. A., Rosental, F. A. Amino Acids (Chemistry, biology, medicini) – New – York, 1990. – 1190 p.

УДК 619:615.285

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор

Григорьев Ю.В., кандидат химических наук*

Мяцкова Т.Я., кандидат ветеринарных наук, доцент

Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, профессор

Андреева Т.Н., старший научный сотрудник*

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

**Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» (НИИ ФХП БГУ), г. Минск*

ИНСЕКТО-АКАРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ВЕТЕРИНАРНОГО «ЦИПЕРВЕТ» И ОСТАТОЧНЫЕ ЕГО КОЛИЧЕСТВА В ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА

Резюме

Изучена акарицидная активность препарата ветеринарного «Ципервет» in vitro in vivo в рабочей концентрации 0,01%. Производственные испытания показали, что его эффективность составляет 100%. После наружного однократного применения кроликам в 0,015% концентрации через 10 дней остаточные количества циперметрина в мясе, печени и почках не обнаруживаются; после повторной обработки также не обнаруживаются в мясе и печени на 10-й день, а в почках - на 15 день. Через 12 часов после наружной обработки дойных коров в 0,01% концентрации остаточные количества циперметрина в молоке не обнаруживаются (технологический перерыв между дойками).

Summary

Acaricide activity of the veterinary drug «Cypervet» in concentration of 0.01% have been studied in vitro in vivo. The study in manufacturing conditions showed 100% efficiency. After 10 days a single external use on rabbits in concentration of 0,015 % residual amounts of cypermethrin were not detected in meat, liver and kidneys; after reparse also not detected in meat and liver at the 10th day and the kidney - 15 day. After 12 hours a single external use on cash cows in concentration of 0,01 % residual amounts of cypermethrin were not detected in milk (technological break between milking).

Поступила в редакцию 07.04.2015

ВВЕДЕНИЕ

В Беларуси среди животных широко распространены арахно-энтомозы, такие как псороптоз, саркоптоз, бовикулез, симулиидотоксикоз, гиподерматоз и др. Для успешной борьбы с ними в республику из-за рубежа завозится значительное количество препаратов на основе циперметрина [1, 2, 3].

На основании циперметрина нами создан ряд образцов препарата, устойчивых к атмосферным осадкам (НИИ ФХП БГУ и РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского»).

Согласно постановлению МСХП РБ № 18 от 28.03.2012 г. максимально допустимый уровень остатков циперметрина

(суммы изомеров) в животноводческой продукции составляет от 20 до 200 мкг/кг [5].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сравнительное изучение акарицидной активности образцов препарата с различным составом веществ под номерами № 1, № 2, № 3 и № 4 провели на изолированных клещах *in vitro* согласно «Методическим указаниям по испытанию пестицидов, предназначенных для борьбы с эктопаразитами животных» (М., 1973) и «Методическим указаниям по первичному отбору новых акрицидов и сравнительному изучению их активности против саркоптоидных клещей» (М., 1982). В качестве модели для

первичной оценки эффективности акарицидов использовали кроликов, зараженных клещами вида *Psoroptes cuniculi*.

Предварительные клинические испытания трех образцов препарата (№ 1, 2 и 3) провели при псороптозе кроликов в концентрациях 0,005%, 0,01% и 0,02%. Диагноз на псороптоз у кроликов подтверждали лабораторным исследованием корочек, извлеченных из уха. При этом обнаруживали клещей на разных стадиях развития.

Обработку ушной раковины препаратами проводили с помощью квача из ваты, тщательно смачивая внутреннюю поверхность уха и ушной проход. Повторную обработку кроликов проводили через 10 дней.

Испытание эффективности препаратов против клещей провели в условиях вивария института при спонтанном псороптозе кроликов. Препарат испытывали в концентрациях 0,01% и 0,02% в виде белой водной эмульсии. Каждую концентрацию испытывали на пяти кроликах с поражением одного и/или обеих ушей клещами *Psoroptes cuniculi*. Перед обработкой внутренней поверхности ушной раковины ее очищали от корочек и тщательно обрабатывали эмульсией поверхность уха в направлении от здоровой к пораженной ткани. Повторно обработку проводили через 10 дней.

Испытания инсекто-акарицидной активности препарата провели на сельскохозяйственных и домашних животных согласно «Программе испытаний с временной инструкцией по применению инсекто-акарицидного препарата «Ципервет», утвержденной Департаментом ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 12.05.2014 г.

Испытания эффективности препарата проводили на 86 телятах и 12 нетелях. Обследование животных на зараженность их насекомыми и клещами проводили путем клинического осмотра и лабораторного исследования соскобов кожи.

На базе городской ветеринарной станции провели клиническое испытание эффективности инсекто-акарицидного препарата «Ципервет» при эктопаразитозах (отодектоз, псороптоз, блохи) домашних (собаки, кошки) и мелких животных (кролики и декоративные кролики), принадлежащие населению. В течение апреля–сентября 2014 г. было обработано 25 собак разных пород (12 гол. – с отодектозом, 8 гол. – против блох, 5 гол. – отодектоз + блохи), 19 кошек (11 гол. – с отодектозом, 8 гол. – против блох) и 11 кроликов с псороптозом. Диагноз ставили по клиническим признакам с последующим лабораторным подтверждением (обнаружение соответствующего паразита в соскобах и корочках кожи).

Определение остаточных количеств циперметрина в мясе, печени и почках кроликов провели в условиях вивария института. Было сформировано 7 групп кроликов по 2 головы в каждой. Кормление и содержание животных всех групп было одинаковое. До обработки препаратом в рабочей концентрации провели убой кроликов 1 группы и отобрали пробы мяса (двуглавая мышца бедра и длиннейшая мышца спины), печени и почек. Животных 2–7 групп обработали 0,015% эмульсией ципервета из расчета 50 мл/голову путем нанесения эмульсии вдоль позвоночника и боковых поверхностей до полного смачивания, с последующим втиранием против шерсти. Через 10 дней животных 5–7 групп повторно обработали 0,015% эмульсией ципервета из расчета 50 мл/голову путем нанесения эмульсии вдоль позвоночника и боковых поверхностей до полного смачивания с последующим втиранием против шерсти. Убой животных и отбор проб мяса, печени и почек проводили после однократной обработки через 5 дней, 10 и 12 дней; после повторной – через 7, 10 и 15 дней. Пробы мяса, печени и почек отбирали в течение 40 минут после убоя животных, маркировали и хранили их при температуре минус 18°C.

Для изучения остаточных количеств

препарата «Ципервет» в молоке три коровы перед утренней дойкой были обработаны 0,01%-ной водной эмульсией инсектоакарицидного препарата «Ципервет» с расходом 1,0–1,5 л на голову. Препарат применяли путем наружного опрыскивания до полного смачивания поверхности тела с последующим легким втиранием эмульсии против шерсти. После нанесения препарата каких-либо отклонений от физиологической нормы не наблюдалось. Отбор проб молока в количестве 100 мл от каждой коровы проводили по следующей схеме: до обработки, через 12 часов, 24, 36, 48, 50, 72 часа, 4, 5, 6 и 7 суток после обработки. Пробы молока сразу охлаждали, маркировали и хранили до исследования при температуре минус 18°C. Всего отобрано 33 пробы молока. При транспортировке проб не допускали их подтаивания.

Получение активных, не травмированных клещей в день опыта проводили от кроликов, больных псороптозом, у которых отбирали корочки из пораженного уха. Отбор клещей проводили следующим образом: в подогретые чашки Петри помещали корочки и струпь на салфетки темного цвета и касательными движениями препаровальной иглы, смоченной физраствором, переносили клещей в чашки Петри на салфетки с акарицидом в концентрации 0,005; 0,01; 0,02; 0,03 и 0,05%. После подсадки жизнеспособность клещей определяли, просматривая их под микроскопом. В качестве контроля использовали водопроводную воду. Затем чашки помещали в термостат при температуре 27–28°C. Наблюдения проводили через 1,5 ч, 3, 24, 36, 48 и 60 часов. Оценку жизнеспособности клещей проводили под микроскопом по следующим показателям: наличие полной или частичной потери подвижности, отсутствие каких-либо движений конечностями. Опыт *in vitro* проводили в трех повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты акарицидной активности

образцов препаратов представлены в таблице 1.

Из таблицы видно, что все образцы препаратов обладают акарицидной активностью *in vitro* против клещей *Psoroptes cuniculi*. Однако образец препарата № 2 проявил более высокую акарицидную активность через 48 и 60 часов во всех концентрациях.

При клиническом осмотре внутренней поверхности уха кроликов через 9 дней установлено, что у всех животных она была практически чистой без нагноений и засохших корочек. При лабораторном исследовании единичные живые клещи были обнаружены у животных обработанных препаратом № 1 в концентрации 0,005%, мертвые клещи обнаружены у кроликов, обработанных препаратом № 1 в концентрациях 0,01 и 0,02%.

У животных, обработанных образцами препарата № 2 и 3, после первой обработки клещей и их яиц обнаружено не было.

При микроскопическом исследовании соскобов с внутренней поверхности уха через 10 дней после повторной обработки у животных всех групп клещи не были обнаружены.

Следовательно, испытуемые образцы препарата в концентрации от 0,005% до 0,02% эффективны при акарозах на 100%.

На основании вышеизложенных результатов исследований наиболее высокую акарицидную эффективность *in vitro* и *in vivo* проявил образец препарата с номером № 2 (далее препарат ветеринарный «Ципервет»).

В условиях вивария института провели клиническое испытание акарицидных свойств препарата «Ципервет» при спонтанном псороптозе кроликов. При микроскопировании корочек и соскобов обнаруживали живых клещей на разных стадиях развития. Внутреннюю поверхность уха и наружный слуховой проход кроликов обрабатывали водной эмульсией препарата в концентрациях 0,01% и 0,02%.

При клиническом осмотре ушных ра-

ФАРМАКОЛОГИЯ

Таблица 1 – Акарицидная активность препаратов *in vitro*

№ чашки	Концентрация	Кол-во клещей, шт.	Время наблюдения через, ч							
			1,5 ж/м*	3, ж/м	24, ж/м	36, ж/м	48, ж/м	ЭЭ, %	60, ж/м	ЭЭ, %
образец № 1										
1	0,005	8	8/0	8/0	8/0	1/7	3/5	62,5	3/5	62,5
2	0,01	11	7/4	7/4	7/4	1/10	3/8	72,72	0/11	100
3	0,02	11	9/3	9/3	5/6	1/10	2/9	81,81	0/11	100
4	0,03	9	3/6	3/6	3/6	0/9	0/9	100	0/9	100
5	0,05	9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	100	0/9	100
образец № 2										
1	0,005	10	10/0	10/0	9/1	5/5	3/7	70,0	0/10	100
2	0,01	11	7/4	7/4	6/5	1/10	1/10	90,90	0/11	100
3	0,02	10	2/8	4/6	2/8	1/9	1/9	90,0	0/10	100
4	0,03	12	1/11	0/12	0/12	0/12	0/12	100	0/12	100
5	0,05	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	100	0/10	100
образец № 3										
1	0,005	11	11/0	11/0	11/0	10/1	8/3	27,27	4/7	63,63
2	0,01	15	15/0	15/0	15/0	7/8	3/12	80,0	0/15	100
3	0,02	13	13/0	12/1	12/1	7/6	3/11	84,61	0/13	100
4	0,03	11	7/2	7/2	7/2	0/11	1/10	90,91	0/11	100
5	0,05	14	7/7	9/5	8/6	0/14	0/14	100	0/11	100
образец № 4										
1	0,005	10	10/0	10/0	10/0	5/5	5/5	50,0	2/8	80,0
2	0,01	13	11/2	12/1	12/1	3/10	3/10	76,92	2/11	84,61
3	0,02	12	11/1	6/6	¾	2/10	2/10	83,33	0/12	100
4	0,03	13	9/4	8/5	7/6	0/13	0/13	100	0/13	100
5	0,05	12	8/4	6/6	6/6	0/12	0/12	100	0/12	100
контроль										
вода водопроводная		13	13/0	13/0	13/0	13/0	13/0	0	13/0	0

Примечание – *живые/мертвые

ковин кроликов через 10 дней после первичной обработки установлено, что внутренняя поверхность ушных раковин очистилась от корочек и признаки воспаления отсутствовали. При исследовании соскобов клещи не обнаружены. У всех кроли-

ков через 7 дней после повторной обработки поверхность уха была в норме и клещи обнаружены не были.

Таким образом, ципервет в концентрациях 0,01% и 0,02% в виде водной эмульсии при двукратной обработке кро-

ликов при псороптозе обладает 100% эффективностью.

В производственных условиях для определения эффективности препарата при акарозах и энтомозах подобрали 4 группы телят 2–6-месячного возраста с очаговым поражением кожи в области корня хвоста, предлопаточной и вентральной стороны шеи, в области ушей, конечностей, живота. У животных 1 группы экстенсивность инвазии чесоточными клещами, бовикулами и вшами составила 16–28%, 2 группы – 16,66–38,88%, 3 группы – 22,22–33,33% и 4 группы – 11,11–22,22% соответственно.

Животных 1 группы (25 гол.) обработали водной эмульсией препарата в концентрации 0,005%, 2 группы (34 гол.) – 0,01% и 3 группы (18 гол.) – 0,015%. 4 группа (9 гол.) обработке не подвергалась. Расход водной эмульсии препарата на одного теленка составил 200–250 мл. Водную эмульсию препарата наносили путем мелкокапельного опрыскивания до полного смачивания шерстного покрова спины и боков. Особенно тщательно обрабатывали места поражения в области ушей, конечностей, живота, корня хвоста. Повторную обработку животных провели через 10 дней водной эмульсией препарата в тех же концентрациях и в том же объеме. При клиническом наблюдении отклонений от физиологической нормы у телят после обработки не наблюдалось. Телята содержались постоянно в помещении без выгулов.

До применения препарата шерстный покров у большинства телят был взъерошен, некоторые животные терлись о клетку, животные были беспокойны, лабораторно были обнаружены клещи р. Псороптес, бовикулы и вши. Через 10 дней после первой обработки шерстный покров стал более гладкий и ровный, при клиническом обследовании и исследовании соскобов кожи живые клещи и бовикулы обнаружены у животных только 1 группы. Имеющиеся на коже ранки и потертости затянулись. У животных 2–3 групп обна-

ружены единичные клещи.

После повторной обработки (через 7 дней) у животных 2–3 групп бовикулы, чесоточные клещи и вши обнаружены не были, в 1 группе – были обнаружены единичные клещи. Состояние шерстного покрова значительно улучшилось.

По результатам клинического обследования – локальное отсутствие волосяного покрова, наличие корочек на коже корня хвоста, основания рогов и ушей, взъерошенность шерстного покрова в области спины и лабораторного исследования (обнаружены клещи псороптес и бовикулы) – сформировали группу нетелей в количестве 12 голов. Животные постоянно содержались в помещении. Нетелей обработали 0,01% водной эмульсией ципервета двукратно с интервалом 110 дней между обработками. Норма расхода эмульсии составила 1,5–2,5 л на животное в зависимости от массы тела животного (в среднем 5 мл 0,01% водной эмульсии на 1 кг массы тела). После обработки в клиническом состоянии нетелей отклонений не наблюдалось.

После первой обработки у животных беспокойства в поведении не отмечалось, пораженные участки кожи практически очистились от корочек, взъерошенность шерсти оставалась незначительная, а после повторной обработки шерстный покров стал гладкий.

Таким образом, ципервет в рабочей концентрации 0,01% и 0,015% при норме расхода 250 мл телятам 2–6 месяцев и в концентрации 0,01% у взрослого крупного рогатого скота с нормой расхода 1,5–2,5 л на животное обладает 100% эффективностью при псороптозе, бовикулезе и сифункулятозе крупного рогатого скота.

Клинические испытания эффективности инсекто-акарицидного препарата «Ципервет» в 0,01% концентрации провели при **эктопаразитах домашних и мелких животных**, принадлежащих населению при двукратной обработке. Установлено, что в результате двукратной обработки все животные освободились от

ФАРМАКОЛОГИЯ

эктопаразитов, что было подтверждено клиническими и микроскопическими исследованиями соскобов кожи.

Определение остаточных количеств циперметрина проводили на кроликах после наружного применения 0,015% водной

эмульсии ципервета в количестве 50 мл на голову.

Определение остаточных количеств циперметрина **в мясе, печени и почках** кроликов (НИИ ФХП БГУ) и используемое оборудование представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Используемое оборудование для определения остаточных количеств циперметрина в мясе, печени и почках кроликов

№ п/п	Наименование и тип (марка) испытательного оборудования и средства измерения	Инвентарный (заводской) номер	Срок действия (метрологической аттестации) поверки	Кем выдано свидетельство
1	хроматограф газовый GCMS-QP2010 Plus	013316730	до 4.04.2015	РУП «БелГИМ»
2	весы аналитические QNAUS	013316744	до 31.10.2015	РУП «БелГИМ»

Температура воздуха: 18–20°C.
Влажность: 65–73 %.

Результаты определения остаточных количеств циперметрина в мясе, печени и

почках кроликов, обработанных 0,015% водной эмульсией препарата «Ципервет», представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты анализа мяса, печени и почек кроликов, обработанных рабочей эмульсией препарата «Ципервет» в 0,015% концентрации

№ образца	Обработка, когда взята проба	Наименование образца	Среднее значение концентрации ЦМ, мг/кг
1/1	до обработки	мясо	0
1/2		печень	0
1/3		почки	0
2/1	однократно, через 5 дней	мясо	0,45 ± 0,05
2/2		печень	0,87 ± 0,09
2/3		почки	1,25 ± 0,1
3/1	однократно, через 10 дней	мясо	0
3/2		печень	0
3/3		почки	0
4/1	однократно, через 12 дней	мясо	0
4/2		печень	0
4/3		почки	0
5/1	двукратно, через 7 дней	мясо	0,026 ± 0,003
5/2		печень	0,41 ± 0,04
5/3		почки	1,12 ± 0,1
6/1	двукратно, через 10 дней	мясо	0
6/2		печень	0
6/3		почки	0,053 ± 0,005
7/1	двукратно, через 15 дней	мясо	0
7/2		печень	0
7/3		почки	0

Таким образом, при однократной обработке кроликов рабочей эмульсией в концентрации 0,015% остаточные количества циперметрина полностью выводятся из организма через 10 дней. При повторной обработке остаточные количества ци-

перметрина не обнаруживаются в мясе и печени на 10-й день, в почках – на 15 день.

Результаты определения остаточных количеств циперметрина в молоке коров, обработанных рабочей эмульсией препарата «Ципервет», представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Динамика остаточных количеств циперметрина в молоке обработанных коров

№№ п/п	Сроки отбора проб		Среднее значение концентрации ЦМ, мг/ кг
	часы	сутки	
1	до обработки		не обнаружено
	после обработки через:		
2	12	0,5	не обнаружено
3	24	1	не обнаружено
4	36	1,5	не обнаружено
5	48	2	не обнаружено
6	60	2,5	не обнаружено
7	72	3	не обнаружено
8	–	4	не обнаружено
9	–	5	не обнаружено
10	–	6	не обнаружено
11	–	7	не обнаружено

Из таблицы видно, что в молоке коров, обработанных препаратом «Ципервет» в рабочей концентрации 0,01% остаточные количества циперметрина не обнаруживаются через 12 часов после обработки (технологический перерыв между дойкой).

Наши данные по остаточным количествам циперметрина в продукции животноводства согласуются с данными Солдатова П.А. (2006) [5].

ВЫВОДЫ

1 Препарат ветеринарный «Ципервет» в концентрациях 0,01% и 0,02% в виде водной эмульсии при двукратной обработке (с интервалом в 10 дней) кроликов при псороптозе обладает 100% эффективностью.

2 Препарат ветеринарный «Ципервет»

обладает 100% эффективностью при псороптозе, бовикулезе и сифункулятозе.

3 В 0,01% концентрации при двукратном применении через 10 дней при отодектозе и против блох у домашних и мелких животных ципервет обладает 100%-ной эффективностью.

4 Через 10 дней после однократного наружного применения кроликам в 0,015% концентрации остаточные количества циперметрина в мясе, печени и почках не обнаруживаются;

5 После повторной обработки не обнаруживаются в мясе и печени на 10-й день, в почках – на 15 день.

6 Через 12 часов после наружной обработки коров в 0,01% концентрации остаточные количества циперметрина в молоке не обнаруживаются (технологический перерыв между дойками).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Эктомин. Изд. «Сибга-Гейги». 1987 г.
- 2 Эктопор. Изд. «Сибга-Гейги». 1987 г.
- 3 Фролов, Б.А. Использование акарицидного препарата байтикол-пурола на основе пиретроида против псороптоза крупно рогатого скота /Б.А.Фролов // Проблемы ветеринарной санитарии и экологии. Сб. науч. трудов. – М., 1994.– Т.93, –Ч. II. – С. 21–25.
- 4 Ветеринарно-санитарные правила проведения исследований на наличие запрещенных веществ и превышения максимально допустимых уровней остаточных количеств ветеринарных препаратов, других химических соединений в живых животных, продуктах животного происхождения, утв. Постановлением МСХП РБ № 18 от 28.03.2012 г.
- 5 Солдатов, П.А. Токсикологическая характеристика димципа /П.А. Солдатов // Автореферат дисс. канд.вет.наук: Ульяновск, 2006.

УДК 619:616.99:615.37:636

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор
Степанова Е.А., кандидат ветеринарных наук
Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, профессор

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ С ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АССОЦИАТИВНЫХ ПАРАЗИТОЗОВ ЖИВОТНЫХ «ПЕНТАВЕТ» И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Резюме

В статье представлены данные о разработке нового препарата с иммуностимулирующими свойствами для профилактики ассоциативных паразитозов животных «Пентавет». Приведены данные о влиянии «Пентавета» на организм лабораторных животных. Установлено, что препарат не оказывает отрицательного действия на гематологические, биохимические и иммунологические показатели организма животных.

Summary

Data on development of antiparasitic complex drug with immunostimulating action for preventive maintenance of associative parasitosis in animals «Pentavet» are provided. Data on the influence of «Pentavet» on the organism of laboratory animals are presented. The article describes that the drug has no negative effects on hematological, biochemical and immunological parameters of animals.

Поступила в редакцию 10.04.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Паразитарные болезни животных наносят большой экономический ущерб, который обуславливается не только высоким падежом, но и снижением качества продукции и продуктивности переболевших животных. Следует учитывать и то, что среди паразитарных болезней широко распространены зоонозы.

Для терапии и профилактики паразитарных болезней в последнее время создан ряд эффективных групп препаратов – про-

изводные бензимидазолов, пиретроиды, макроциклические лактоны и другие. Отлично зарекомендовали себя известные препараты – ивермектин, фенбендазол, альбендазол, эктомин и многие другие [1].

Однако при применении существующих антгельминтиков снижается иммунитет животного, возникает привыкание к препаратам гельминтов и, следовательно, происходит снижение их эффективности. В настоящее время в мировой практике накопилось достаточно фактов и имеется мно-

жество научных публикаций о развитии иммуносупрессии при применении различных химиотерапевтических препаратов, вследствие чего эффективность их значительно снижается [3, 4, 5, 6, 7].

Также в последнее время все чаще регистрируются случаи резистентности паразитических организмов к лекарственным средствам. В США, Бельгии, Австралии, Великобритании и других странах мира у овец были выделены штаммы гемонхов, остертагий, трихостронгилид, стронгилид, имеющие устойчивость к тиабендазолу, фенбендазолу, камбендазолу, ивермектину, левамизолу, морантелу (J.H. Voersema et al., 1987; G. Coles, 1997; И.А. Архипов и др., 2002).

В связи с этим следует разрабатывать новые препараты и новые методы борьбы с резистентностью паразитов к химиотерапевтическим средствам. Для предупреждения резистентности паразитов необходимо использовать комплексные препараты, не допускать длительного применения малых доз антгельминтиков и других противопаразитарных средств. Должна быть постоянная ротация применения препаратов с различным механизмом действия на паразитов. Это даст возможность более эффективно использовать препараты, значительно снизить затраты и повысить эффективность ветеринарных мероприятий при паразитарных болезнях.

В последние годы нами разрабатываются комплексные препараты, содержащие компоненты, обладающие иммуностимулирующими свойствами. Сотрудниками отдела паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» были подобраны компоненты и сконструирован новый комплексный препарат с иммуностимулирующими свойствами для профилактики ассоциативных паразитозов животных «Пентавет», который может применяться жвачным, лошадям, свиньям, домашним животным, диким и пушным зверям.

«Пентавет» относится к комбинированным противопаразитарным препаратам.

Он обладает широким спектром действия, предназначен для лечения и профилактики болезней у животных, вызванных гельминтами, чувствительными к компонентам препарата: фасциолеза, мониезиоза, диктиокаулеза, аскаридатозов, телязиоза, стронгилятозов желудочно-кишечного тракта, стронгилоидоза, трихоцефалеза, оллуланоза.

Целью наших исследований было изучение влияния нового комплексного препарата на организм лабораторных животных для профилактики ассоциативных паразитозов сельскохозяйственных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение влияния нового комплексного препарата для профилактики ассоциативных паразитозов животных на состояние иммунитета, гематологические и биохимические показатели животных провели в хроническом опыте согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» (Минск, 2007 г.) [2]. Для чего сформировали 4 группы кроликов – 3 опытных и 1 контрольную. Кроликам 1 группы (4 гол.) применили препарат в дозе 50 мг/кг массы тела, 2 группы (4 гол.) – в дозе 250 мг/кг и 3 группы (4 гол.) – в дозе 500 мг/кг внутрь один раз в день в течение трех дней подряд с небольшим количеством комбикорма. Животным 4 группы (4 гол.) препарат не задавали (контроль). Исследования крови животных провели до начала опыта, а также спустя 7, 14 и 21 день.

Гематологические показатели крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобин) определили на гематологическом анализаторе *Mithic 18*.

Для изучения влияния препарата на обменные процессы организма в сыворотке крови на биохимическом анализаторе *Dialab Autolyser* определили концентрацию общего белка, альбуминов, кальция, фосфора, магния, железа, глюкозы, холестерина, билирубина, мочевой кислоты, триглицеридов, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ)

и аспаргатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), амилазы.

Фракции белка в сыворотке крови определили при помощи электрофоретической системы «Sebia».

Весь полученный при выполнении исследований цифровой материал подвергли статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office Excel и Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении влияния нового комплексного препарата для профилактики ассоциативных паразитозов животных на гематологические показатели крови у кроликов получены следующие результаты (таблица 1).

Таблица 1– Гематологические показатели крови у кроликов после применения нового комплексного препарата для профилактики ассоциативных паразитозов животных

Показатели		Группа животных			
		1	2	3	контроль
до применения препарата					
число лейкоцитов, 10 ⁹ /л		7,7± 0,47	10,82± 1,66	9,72± 1,60	10,7± 2,63
содержание гемоглобина, г/л		123,25± 1,11	126,5± 3,17	112,75± 3,33	118± 5,15
число эритроцитов, 10 ¹² /л		5,37± 0,08	5,99± 0,14	5,32± 0,10	5,52± 0,21
лейкрограмма, %	лимфоциты, %	57,65± 4,48	58,27± 4,06	49,5± 9,87	55,37± 4,36
	моноциты, %	0,72± 0,08	0,9± 0,04	0,7± 0,12	0,8± 0,04
	гранулоциты, %	41,62± 4,54	40,82± 4,07	49,8± 9,78	43,82± 4,40
через 7 дней					
число лейкоцитов, 10 ⁹ /л		9,37± 2,11	11,72± 0,89	9,72± 1,16	11,7± 0,65
содержание гемоглобина, г/л		111± 3,53	117,75± 2,17	110,25± 3,84	108,25± 4,89
число эритроцитов, 10 ¹² /л		5,19± 0,07	5,95± 0,06	5,33± 0,11	5,5± 0,17
лейкрограмма, %	лимфоциты, %	54,42± 6,61	52,07± 3,99	49,77± 2,31	42,57± 6,38
	моноциты, %	0,8± 0,04	1,07± 0,14	1,27± 0,22	1,07± 0,15
	гранулоциты, %	44,77± 6,61	46,85± 3,96	48,95± 2,15	56,35± 6,24
через 14 дней					
число лейкоцитов, 10 ⁹ /л		12,5± 1,31	11,87± 1,23	11,6± 1,65	9,6± 0,79
содержание гемоглобина, г/л		117± 3,94	119,5± 2,02	109,5± 6,39	114,25± 7,97
число эритроцитов, 10 ¹² /л		5,36± 0,23	5,99± 0,12	5,21± 0,32	5,42± 0,27
лейкрограмма, %	лимфоциты, %	43,77± 4,41	45± 2,17	37,85± 5,97	40,57± 3,70
	моноциты, %	0,82± 0,13	0,8± 0,11	1,47± 0,34	1,07± 0,15
	гранулоциты, %	55,4± 4,34	54,2± 2,15	60,67± 5,76	58,35± 3,61
через 21 день					
число лейкоцитов, 10 ⁹ /л		12,72± 1,3	8,5± 0,39	14,17± 2,13	14,02± 2,12
содержание гемоглобина, г/л		154,75± 11,81	155,75± 20,65	131± 17,15	127,5± 12,51
число эритроцитов, 10 ¹² /л		6,53± 0,5	7,12± 0,92	5,71± 0,76	5,71± 0,46
лейкрограмма, %	лимфоциты, %	44,6± 4,87	56,52± 6,77	32,12± 10,11	37,12± 10,12
	моноциты, %	0,52± 0,06*	0,57± 0,02**	0,72± 0,08	0,77± 0,04
	гранулоциты, %	54,87± 4,94	42,9± 6,79	67,15± 10,02	62,1± 10,09

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01

При интерпретации результатов гематологических показателей крови кроликов после применения нового комплексного препарата для профилактики ассоциативных паразитозов животных получены статистически значимые различия процен-

тного содержания моноцитов у животных 1 и 2 опытных групп на 21 день исследования, однако данные показатели не выходили за рамки физиологических колебаний соответствующего показателя. Таким образом, представленные в таблице результаты

исследований гематологических показателей крови у кроликов после применения препарата свидетельствуют о том, что препарат не оказывает отрицательного влияния на организм животных, что указывает на его безвредность.

Фракции белка в сыворотке крови определили при помощи электрофоретической системы «Sebia». Расчеты процентно-

го содержания отдельных белковых фракций в пуле белка сыворотки крови проводили на основании анализа денситограмм, полученных при обработке электрофореграмм с помощью программного обеспечения системы Solar.

Результаты исследования изменений после применения препарата представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Процентное содержание белковых фракций в сыворотке крови кроликов после применения нового комплексного препарата

Показатели	Группа животных			
	1 группа	2 группа	3 группа	контроль
	до применения препарата			
Альбумин, %	67,89± 1,77	63,22± 1,40	63,22± 2,54	64,79± 1,42
α ₁ -антитрипсин, %	2,71± 0,24	2,61± 0,54	3,09± 0,38	2,70± 0,07
α ₂ -гаптоглобин и церулоплазмин, %	3,54± 0,51	4,72± 0,54	6,09± 1,75	6,67± 1,26
β- трансферины, %	8,23± 1,11	8,09± 0,74	8,34± 1,15	7,98± 0,822
g - глобулины, %	17,63± 0,37	21,35± 1,52	19,26± 1,99	17,86± 1,17
A/Г	2,14± 0,18	1,73± 0,09	1,76± 0,21	1,85± 0,12
через 7 дней				
Альбумин, %	63,69± 2,69	63,81± 1,53	55,11± 8,98	56,73± 4,86
α ₁ -антитрипсин, %	3,08± 0,05	2,68± 0,49	2,30± 0,30	2,27± 0,61
α ₂ -гаптоглобин и церулоплазмин, %	4,82± 0,38**	3,95± 0,17**	4,44± 0,29**	3,18± 0,13
β- трансферины, %	10,60± 2,15	10,99± 2,23	9,19± 0,95	13,64± 3,07
g - глобулины, %	17,81± 1,14*	18,56± 0,92*	21,44± 1,91	24,42± 2,03
A/Г	1,80± 0,19	1,77± 0,11	1,71± 0,19	1,39± 0,26
через 14 дней				
Альбумин, %	60,76± 1,04	62,12± 3,07	59,99± 1,69	57,46± 3,14
α ₁ -антитрипсин, %	1,97± 0,27*	1,80± 0,47	2,05± 0,34	2,81± 0,23
α ₂ -гаптоглобин и церулоплазмин, %	2,97± 0,21	3,48± 0,36	3,97± 0,73	3,20± 0,58
β- трансферины, %	12,50± 0,64	10,57± 2,40	9,03± 0,64	10,19± 1,37
g - глобулины, %	21,79± 1,04	22,02± 1,66	24,96± 1,05	26,33± 2,77
A/Г	1,55± 0,07	1,70± 0,24	1,51± 0,10	1,40± 0,21
через 21 день				
Альбумин, %	59,72± 3,50	57,88± 2,01	54,98± 1,26**	59,88± 0,97
α ₁ -антитрипсин, %	3,19± 0,14	2,67± 0,30	2,93± 0,35	2,57± 0,25
α ₂ -гаптоглобин и церулоплазмин, %	6,27± 2,87	3,58± 0,25	6,83± 1,61	4,05± 0,39
β- трансферины, %	9,85± 0,99	10,78± 1,42	12,00± 1,64	8,24± 0,79
g - глобулины, %	22,23± 1,51	25,09± 1,98	23,24± 2,57	25,25± 1,22
A/Г	1,43± 0,14	1,39± 0,11	1,22± 0,06**	1,50± 0,06

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01

При интерпретации результатов процентного содержания белковых фракций в сыворотке крови кроликов после применения нового комплексного препарата для

профилактики ассоциативных паразитозов животных наблюдается прирост относительной доли α₂-гаптоглобиновой и церулоплазминовой фракции в 1, 2 и 3 группах,

ФАРМАКОЛОГИЯ

снижение g - глобулиновой фракции в 1 и 2 группах на 7 день исследований, снижение доли α₁-антитрипсиновой фракции в 1 группе на 14 день и прирост относительной доли альбуминовой фракции в 3 группе на 21 день, однако все указанные показатели состава белковых фракций крови находятся в пределах физиологической нормы.

Для изучения влияния препарата на обменные процессы организма в сыворотке

крови определили концентрацию общего белка, альбуминов, кальция, фосфора, кальций-фосфорное отношение, магния, железа, глюкозы, холестерина, билирубина, мочевой кислоты, триглицеридов, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), амилазы и коэффициент Де-Ритиса (таблица 2).

Таблица 3 – Биохимические показатели сыворотки крови кроликов при применении нового комплексного препарата

Показатели	До применения препарата				Через 7 дней			
	1 группа	2 группа	3 группа	контроль	1 группа	2 группа	3 группа	контроль
1	2	3	4	5	6	7	8	9
общий белок, г/л	61,25± 1,32*	66,47± 1,29	61,55± 0,35	65,91± 0,52	64,39± 1,88	72,21± 0,99	68,75± 3,33	71,69± 3,50
альбумин, г/л	45,04± 2,22	97,48± 28,34	49,04± 13,33	28,74± 4,29	44,79± 2,31	48,96± 2,32	41,64± 4,76	34,01± 6,10
амилаза, Ед/л	180,32± 13,49	176± 10,41**	189,07± 32,01	244,93± 12,61	205,92± 34,94	162,07± 7,79	158,8± 14,47	206,8± 19,46
щелочная фосфатаза, Ед/л	229,52± 15,45	207,46± 38,78	291,62± 74,49	195,77± 25,32	165,55± 22,09	185,37± 38,89	186,2± 30,45	232,43± 25,31
ЛДГ, Ед/л	675,77± 61,92	879,62± 159,97	556,53± 47,33	618,07± 45,24	411,62± 104,62	410,12± 72,67	288,17± 29,92	636,87± 169,23
АСТ, Ед/л	55,91± 7,85	51,07± 1,92	43,25± 4,26	51,6± 10,43	22,84± 5,82	23,24± 3,55	26,41± 2,99	39,32± 16,41
АЛТ, Ед/л	71,37± 2,57	70,92± 11,88	75,56± 9,22	98,33± 11,57	73,87± 16,16	59,04± 7,76	75,08± 7,58	68,50± 9,26
коэффициент Де-Ритиса	0,78± 0,11	0,77± 0,11	0,52± 0,01	0,51± 0,05	0,32± 0,04	0,42± 0,09	0,36± 0,04	0,59± 0,21
Об. билирубин, мкМ/л	1,18± 0,80	0,24± 0,12	1,14± 0,79	0,02± 0,02	0,13± 0,07	0,01± 0,01	0,08± 0,05	0,06± 0,06
П. холестерин, ммМ/л	1,63± 0,42	1,76± 0,33	1,80± 0,22*	1,05± 0,12	1,26± 0,20	1,34± 0,18	1,85± 0,32	1,35± 0,21
триглицериды, ммМ/л	1,76± 0,31	1,57± 0,40	1,85± 0,26	2,06± 0,46	1,46± 0,37	0,96± 0,17*	1,24± 0,69	1,98± 0,27
кальций, ммМ/л	3,73± 0,40	3,51± 0,17	3,49± 0,81	3,16± 0,04	3,73± 0,21	3,75± 0,30	3,54± 0,35	3,71± 0,33
фосфор, ммМ/л	1,57± 0,14	1,27± 0,21	1,15± 0,11	1,28± 0,23	1,77± 0,19	1,73± 0,05	2,07± 0,17	2,26± 0,51
кальций/ Фосфор (Са:Р)	2,37± 0,14	3,09± 0,65	3,20± 0,89	2,68± 0,39	2,19± 0,30	2,16± 0,12	1,79± 0,34	1,79± 0,24
магний, ммМ/л	0,64± 0,09	0,71± 0,09	0,70± 0,06	1,16± 0,28	1,08± 0,03	1,24± 0,10	1,40± 0,13	1,15± 0,10
железо, мкМ/л	32,49± 2,05	38,47± 3,35	41,18± 3,64	39,78± 4,22	26,83± 3,43	41,28±4,58	41,90± 9,13	32,64± 9,62
глюкоза, ммМ/л	4,43± 0,34	5,26± 0,52	4,41± 0,40	5,90± 0,93	6,76± 0,19	6,64± 0,38	6,68± 0,26	6,36± 0,58
мочевая к-та, мкМ/л	28,61± 4,95	45,99± 15,52	25,76± 7,05	31,76± 15,83	40,42± 8,99	67,82± 11,92	76,10± 6,96	67,25± 23,66

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
общий белок, г/л	69,62± 2,41	72,32± 2,25	69,96± 3,32	73,50± 3,20	66,95± 2,84	65,77± 1,33	56,49± 1,37	61,09± 3,25
альбумин, г/л	34,17± 3,47	32,13± 4,06	39,44± 5,46	37,67± 4,28	46,90± 4,08	41,56± 1,31	35,07± 1,54	39,57± 2,19
амилаза, Ед/л	202,7± 26,35	179,47± 18,67	167,7± 9,91	203,82± 12,27	204,55± 31,94	150,04± 17,64	138,69± 27,35	191,22± 16,09
щелочная фосфатаза, Ед/л	113,58± 15,17	135,49± 30,35	115,22± 5,02	114,38± 29,01	127,95± 13,11	117,92± 36,63	82,04± 10,93	123,62± 6,37
ЛДГ, Ед/л	682,92± 163,36	795,62± 303,20	783,32± 95,99	758,15± 177,04	612,47± 123,69	515,40± 138,07	626,55± 136,42	468,5± 134,99
АСТ, Ед/л	28,47± 3,96	26,67± 4,39	23,17± 2,23	26,43± 2,96	31,80± 4,16**	21,39± 3,01	25,12± 2,45	13,09± 1,85
АЛТ, Ед/л	59,07± 3,54	67,38± 9,92	71,14± 5,96	65,05± 5,98	61,66± 5,30	56,34± 6,84	55,40± 3,53**	49,31± 8,97
коэффициент Де-Ритиса	0,48± 0,07	0,39± 0,01	0,33± 0,04	0,41± 0,04	0,52± 0,08*	0,40± 0,08	0,46± 0,06*	0,28± 0,04
Об. билирубин, мкМ/л	0	0,03± 0,03	0	0	0,14± 0,08	0,09± 0,09	0	0,03± 0,03
П. холестерин, мМ/л	1,22± 0,15	1,61± 0,33	1,74± 0,26	1,42± 0,25	1,18± 0,21	1,32± 0,18	1,53± 0,20	1,44± 0,16
триглицериды, мМ/л	1,78± 0,21	1,51± 0,52	2,24± 0,46	1,47± 0,33	1,58± 0,1**	1,27± 0,24	1,96± 0,06**	0,56± 0,25
кальций, мМ/л	3,00± 0,10	3,28± 0,24	3,14± 0,08	3,54± 0,30	2,99± 0,06	2,88± 0,05	2,34± 0,13	2,6± 0,16
фосфор, мМ/л	2,27± 0,07	2,41± 0,15	2,12± 0,18	2,32± 0,22	2,42± 0,37	1,99± 0,19	1,85± 0,11	1,93± 0,16
кальций/фосфор (Са:Р)	1,32± 0,04	1,38± 0,16	1,51± 0,13	1,57± 0,21	1,32± 0,20	1,48± 0,12	1,27± 0,06	1,36± 0,09
магний, мМ/л	1,10± 0,03	1,15± 0,09	1,16± 0,17	1,21± 0,11	0,96± 0,05	1,11± 0,08	0,91± 0,01	1,02± 0,13
железо, мкМ/л	46,57± 10,58	43,01± 7,18	57,12± 10,36	61,37± 7,34	45,61± 10,38	25,21± 2,74	42,84± 9,38	33,2± 2,17
глюкоза, мМ/л	6,67± 0,14	7,54± 0,35*	7,45± 0,34*	6,21± 0,37	4,83± 0,39	4,90± 0,38	4,01± 0,18	4,37± 0,58
мочевая к-та, мкМ/л	49,3± 9,66	27,49± 5,43	35,59± 9,96	38,87± 3,65	87,13± 38,94	65,91± 11,39	62,03± 15,80	53,98± 10,55

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01

Анализ полученных результатов исследований отражающих состояние биохимического обмена не выявил значительных различий.

Несмотря на то, что регистрировались достоверные изменения некоторых показателей (регистрировалось увеличение концентрации глюкозы на 14 день исследования во 2 и 3 группе, относительно животных контрольной группы; увеличение концентрации триглицеридов во 2 группе на 7 день, в 1 и 3 на 21 день исследований; увеличение холестерина в 3 группе до начала опыта; увеличение концентрации

АЛТ в 3 группе, а АСТ в 1 группе через 21 день исследований; снижение амилазы во 2 группе и общего белка в 1 группе до применения препарата), однако данные показатели не выходили за рамки физиологических колебаний соответствующих показателей.

Таким образом, анализ биохимических показателей сыворотки крови при применении комплексного препарата показал, что исследуемый препарат не оказывает отрицательного воздействия на обменные процессы организма.

ВЫВОДЫ

Разработан новый препарат с иммуностимулирующими свойствами для профилактики ассоциативных паразитозов животных «Пентавет».

При изучении влияния нового комплексного препарата для профилактики

ассоциативных паразитозов животных установлено, что препарат не оказывает отрицательного воздействия на гематологические, биохимические и иммунологические показатели организма лабораторных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1 Кузьмин, А.М. Антгельминтики в ветеринарной медицине / А.М. Кузьмин. – М: Аквариум ЛТД, Киров: ФГУИППВ, 2004. – 144 с.

2 Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии/ А.Э.Высоцкий, М.П. Кучинский, Б.Я. Бирман [и др.].-Минск, 2007.– 155 с.

3 Патент RU 2395278 С1, 17.03.2009 Способ получения комплексного препарата для профилактики и лечения патологии обмена веществ и нарушении функции иммунной системы животных

4 Патент RU 2404761 С1, 24.03.2009 Способ получения комплексного препарата для профилактики и лечения нарушений обмена веществ, микроэлементозов, повышения резистентности организма животных.

5 Якубовский, М.В. Иммуитет при гельминтозах животных / М.В. Якубовский // Вес. акад. аграрных наук Беларусі. – 1996. – № 3. – С. 41 – 47.

6 Якубовский, М.В. Иммуносупрессивное влияние на организм животных некоторых паразитов и химиотерапевтических средств и эффективность иммуностимуляторов при паразитарных болезнях / М.В. Якубовский // Ветеринарная медицина Беларусі. – 2000. – №1. – С. 18 – 21.

7 Dzialo, J. Immunity in helminth infections: New data/ Dzialo J.; Deptula W.// Med.weter., 2011; Vol.67, N 11. -P. 737–739.

Средство антисептическое «ЭКСТРАФИТОМАСТ»

для санитарной обработки вымени лактирующих коров
и профилактики маститов

содержит жидкие экстракты
лекарственных трав - цветы
ромашки, календулы и листья
крапивы

оказывает антимикробное действие на грамположительные и грамотрицательные бактерии (эшерихии, стафилококки, стрептококки), дрожжи

не раздражает кожу, не обладает аллергенными свойствами, оказывает мягчительное действие



УДК:619:615.28:616.99 – 085

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор
Красочко И.А., доктор ветеринарных наук, профессор
Щемелева Н.Ю., кандидат ветеринарных наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО ПРЕПАРАТА «ИММУНОВЕТ»

Резюме

В статье приводятся результаты по оценке влияния нового препарата «Иммуновет» на иммунитет телят. Применение нового препарата дало возможность значительно улучшить иммунологические показатели животных, инвазированных паразитами, и, тем самым, снизить уровень инвазии.

Summary

In the article the data on comparison of new drug «Immunovet» immunology efficiency in animal parasite diseases are described. The new drug «Immunovet» showed to be highly immunology efficiency against parasite in cattle.

Поступила в редакцию 19.05.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система организма животных – одна из сложнейших, и ее роль трудно переоценить. Она различает самые разнообразные чужеродные агенты – микробные, вирусные, паразитарные и определяет против них соответствующие реакции. С ее участием осуществляются инфекционные, воспалительные, аллергические, аутоиммунные и другие процессы [1].

Нормально функционирующая иммунная система обеспечивает организму животного выживаемость, а ее расстройства являются причиной ряда заболеваний. Как правило, среди патологий иммунной системы наиболее часто встречаются приобретенные вторичные иммунодефициты. Особое место среди болезней, вызывающих вторичные иммунодефициты, занимают паразитарные [2].

Для всех паразитарных инвазий характерна иммуносупрессия, она касается как гуморального, так и клеточного ответа и имеет свои особенности. Некоторые паразиты непосредственно вызывают разрушение лимфоидных клеток, однако в боль-

шинстве случаев подавление иммунного ответа происходит путем инактивации макрофагов и Т-клеток [1,4]. Так как инвазия паразитами приводит к значительному снижению иммунитета организма, нарушению нормофлоры кишечника, интоксикации, то легко происходит инфицирование животных возбудителями вирусной и бактериальной природы. Чаще всего это вирусы парагриппа-3, вирусной диареи, рота-, корона- и парвовирусной инфекции. Все это приводит к длительному течению болезни, гибели и неблагополучию хозяйств.

На настоящий момент, как показывает эпизоотическая ситуация, на долю желудочно-кишечных заболеваний вирусной природы (вирусная диарея, рота-, корона- и парвовирусная инфекция) приходится 55,0 – 70,0% и до 100%. Смертность и вынужденный убой при данных болезнях составляет от 5% до 50–70% от количества заболевших.

Изучение эпизоотической ситуации по паразитозам крупного рогатого скота в последние годы показало, что имеет место значительное инвазирование животных

нематодами желудочно-кишечного тракта, фасциолами, стронгилоидами, эймериями, криптоспоридиями, чаще регистрируется диктиокаулез, балантидиоз и другие паразитозы. В отдельных хозяйствах инвазированность желудочно-кишечными стронгилиями крупного рогатого скота по данным наших исследований за 2013–2014 гг. достигает 72,2–90,0%, что приводит к значительным потерям продуктивности, ухудшению качества животноводческой продукции [5].

На настоящий момент, как показывает практика, традиционная терапия паразитарных болезней и возникающих на их фоне вирусных инфекций не решает данную проблему по ряду причин:

– при лечении данной группы болезней обычно применяется сразу несколько лечебных средств – антгельминтики, антибиотики, сульфаниламиды и др., при этом идет серьезная нагрузка на ослабленный организм животного, нередко такое лечение имеет отрицательные последствия.

– лечение с использованием целого ряда лекарственных средств, чаще всего импортного производства, требует не малых денежных средств, которые не всегда есть в животноводческих хозяйствах республики.

Поэтому на сегодняшний момент наиболее актуальным является создание оригинальных отечественных препаратов

широкого спектра действия. Особенностью данных препаратов должна быть их высокая терапевтическая активность, направленная на снижение паразитарной инвазии и вирусной инфекции, а также повышение иммунитета, обменных и антиоксидантных процессов у животных, что в целом помогает организму самостоятельно избавиться от паразитарных и вирусных агентов. Применение препаратов такого класса позволит значительно снизить химическую нагрузку действующих веществ на ослабленный организм животного.

В этой связи разработка и внедрение в практику ветеринарии отечественных высокоэффективных иммуностимулирующих препаратов широкого спектра действия является одной из наиболее актуальных задач.

Цель – проведение иммунологической оценки нового отечественного препарата «Иммуновет» с использованием современных иммунологических тестов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения иммунологической оценки препарата «Иммуновет» и изучения влияния его на иммунитет сельскохозяйственных животных были применены дозы и кратность введения препарата, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Схема отработки оптимальных доз иммуностимулирующего препарата «Иммуновет» на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят

Группы животных	Доза препарата	Кратность введения	Количество животных в группе, гол
опытная группа № 1	5 мкг/кг	1 раз в день 3 дня подряд	10
опытная группа № 2	10 мкг/кг	1 раз в день 3 дня подряд	10
контрольная группа	–	–	10

Для проведения иммунологических исследований были подобраны телята 3–4-месячного возраста живой массой 50–60 кг в количестве 30 голов, спонтанно инвазированные ассоциацией паразитов желудочно-

кишечного тракта (стронгилоидами с экстенсивностью инвазии 90%, желудочно-кишечными стронгилиями с экстенсивностью инвазии 83,3%, эймериями с экстенсивностью инвазии 100%), от кото-

рых отбирали пробы крови до применения препарата и через 7, 14, 30 дней после его введения.

Определяли следующие показатели клеточного иммунитета: количество лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, уровень розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов – по методике Д.К. Новикова, В.И. Новиковой, 1996; показатели гуморального иммунитета: количество циркулирующих иммунных комплексов – по методу Ю.А. Гриневич, И.И. Алферова, 1981; белковые фракции, включая иммуноглобулины, белки системы комплемента С3 и др., иммунобиохимические показатели сыворотки крови (содержание общего белка, активность ферментов печени, уровень кальция, фосфора) с использованием наборов Соптеу на биохимическом анализаторе Dialab.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта телят наблюдается значительное угнетение клеточного и гуморального звена иммунитета. Отмечается низкий уровень розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов, лейкоцитоз, увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов на 32,5% ($P < 0,001$) с преобладанием иммунных комплексов малого размера, обладающих высоким патогенным потенци-

алом, снижение уровня иммуноглобулинов и белков системы комплемента, биогенных макроэлементов.

В наших экспериментах по применению нового иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида в дозах 5 и 10 мкг АДВ/кг живой массы, проведенных на телятах, спонтанно инвазированных ассоциативными паразитами желудочно-кишечного тракта (эймериями, стронгилятами желудочно-кишечного тракта, стронгилоидами), выявлены существенные положительные сдвиги в Т- и В-системах клеточного иммунитета, иммунных комплексах, белковых фракциях, обусловленные действием иммуностимулирующего препарата. Исходя из статистического анализа полученных опытных данных (таблицы 2–10), установлено, что применение препарата в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы один раз в день в течение трех дней подряд наиболее полно и быстрее нормализует иммунитет у инвазированных телят. Так, во второй опытной группе телят, где применяли препарат в дозе 10 мкг АДВ /кг живой массы, количество розеткообразующих Т-лимфоцитов достоверно увеличилось на 19,41% ($P < 0,01$) и В-лимфоцитов – на 50,89% ($P < 0,001$), моноцитов – в 2 раза ($P < 0,001$) и макрофагов – в 1,4 раза ($P < 0,001$), тогда как в первой опытной группе достоверных изменений не отмечено (таблица 2, рисунки 1–2).

Таблица 2 – Динамика иммунокомпетентных Т- и В-лимфоцитов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

	Опытная группа 1	Опытная группа 2	Контроль
розеткообразующие Т-лимфоциты			
до применения препарата	44,85±2,15	41,70±2,66	44,31±3,41
на 7-й день	46,12±3,22	52,14±2,21	48,75±2,55
на 14-й день	50,09±2,67	55,86±1,88**	46,78±2,08
на 30-й день	49,33±3,41	54,21±3,15	47,12±4,46
розеткообразующие В-лимфоциты			
до применения препарата	27,32±3,65	25,09±2,40	28,33±2,84
на 7-й день	29,15±2,14	32,98±2,33	26,14±2,66
на 14-й день	31,68±3,22	36,35±3,08*	24,09±4,05
на 30-й день	28,64±2,15	34,18±2,14*	24,76±3,12

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

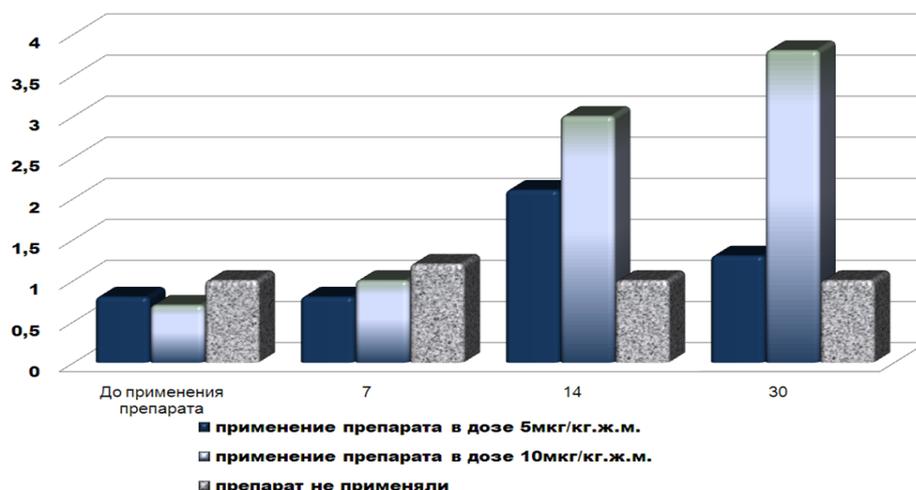


Рисунок 1 – Изменение уровня моноцитов после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят, %

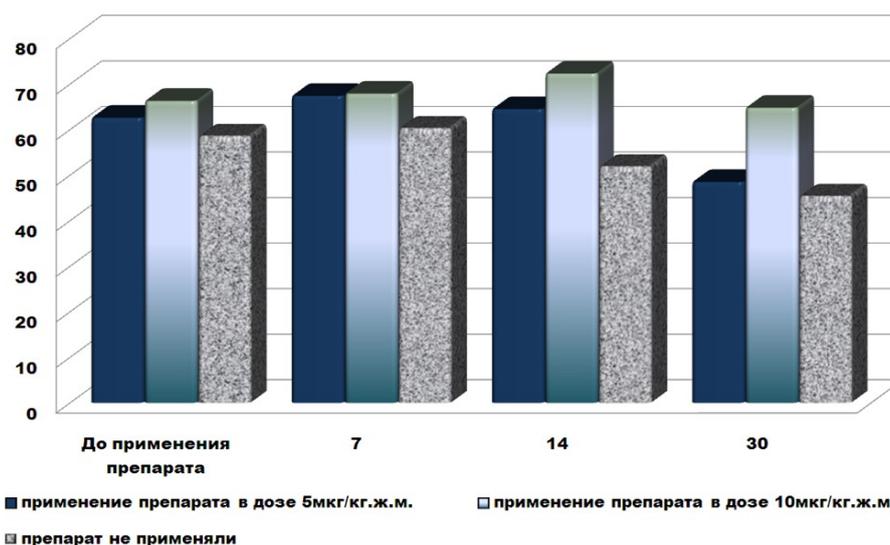


Рисунок 2 – Изменение уровня макрофагов после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида при ассоциативных паразитозах телят, %

Установлено, что после применения иммуностимулятора происходит снижение аллергизации организма животного – нор-

мализуется уровень лейкоцитов и уменьшается количество циркулирующих иммунных комплексов (таблицы 3–5).

Таблица 3 – Динамика лейкоцитов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

Дни исследования	Опытная группа 1	Опытная группа 2	Контроль
лейкоциты, $10^9/л$			
до применения препарата	12,64±4,23	14,81±3,52	12,34±6,31
на 7-й день	12,67±2,31	13,66±1,54	13,17±1,28
на 14-й день	12,08±1,58	10,43±1,32*	15,53±1,55
на 30-й день	11,45±2,05	10,51±0,44*	14,86±2,37

Примечание –* $P < 0,05$

Физиологический уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови способствует реализации многих иммунологических процессов в организме, начиная от активации системы комплемента до изменения функциональной активности клеток крови, *T*- и *B*-клеточных ответов. Для многих болезней образование иммунных комплексов представляет собой естественную часть иммунного ответа. С их помощью происходит освобождение от возбудителя, цель-

ного или разрушенного, иначе говоря «клиренс организма». Увеличение уровня иммунных комплексов в крови зараженных ассоциативными паразитами телят происходит за счет накопления «малых» иммунных комплексов от 1,25 ед.оп.пл. и более, образующихся при недостатке иммуноглобулинов. Эти комплексы способны инактивировать эффекторные клетки через *Fc*-рецепторы и стимулировать выработку иммуносупрессивного фактора.

Таблица 4 – Изменение количественного содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, ед.опт. пл./л

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
до применения препарата	25,71±3,62	22,31±4,11	21,75±5,35
на 7-й день	17,85±5,73	16,33±3,21	26,40±4,56
на 14-й день	15,71±2,61	15,24±2,04*	22,60±2,11
на 30-й день	22,0±2,82	15,31±2,06**	26,0±2,23

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Таблица 5 – Изменение качественного состава циркулирующих иммунных комплексов при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, ед.опт. пл./л

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
до применения препарата	1,25±0,08	1,43±0,06	1,36±0,09
на 7-й день	1,09±0,03	1,21±0,02	1,45±0,07
на 14-й день	1,07±0,03**	1,08±0,04**	1,39±0,09
на 30-й день	1,23±0,08	1,06±0,03**	1,54±0,20

Примечание – ** $P < 0,01$

После применения нового препарата «Иммуновет» установлено, что в крови опытных животных преобладают средние иммунные комплексы 1,09–1,06 ед.оп.пл, которые быстро элиминируются организмом, причем данные процессы наиболее выражены во второй опытной группе телят, где применяли препарат в дозе 10 мг/кг ж.м.

При изучении динамики белка и белковых фракций на фоне применения иммуностимулирующего препарата было также выявлено их достоверное по сравнению с инвазированным контролем увеличение. Так, в течение первой недели

после применения препарата количество общего белка увеличилось на 27,72% ($P < 0,05$) в первой опытной группе и на 31,53% ($P < 0,01$) во второй опытной группе телят (рисунок 3).

Установлено повышение содержания иммуноглобулинов на 21,23% ($P < 0,05$) и белков системы комплемента C_3 на – 36,04% ($P < 0,01$) в первой опытной группе на 14 день исследования, тогда как во второй опытной группе эти показатели составляли 32,65% ($P < 0,01$) и 63,86% ($P < 0,001$) соответственно уже на 7-й день после применения иммуностимулятора,

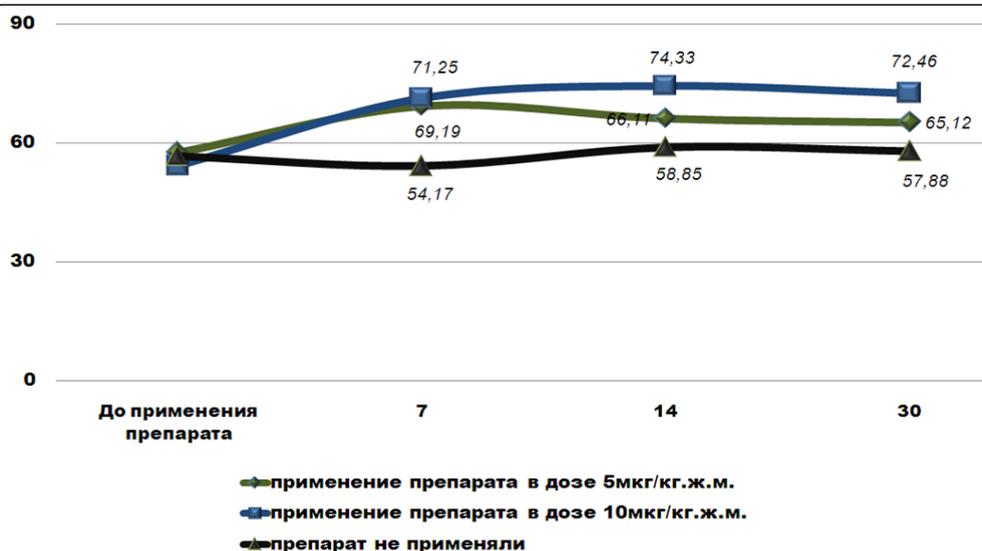


Рисунок 3 – Динамика общего белка при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, г/л

что говорит о более быстром и эффективном иммуногенном действии препарата в дозе 10 мкг/кг. Быстрая активизация белков системы комплемента C_3 является важным показателем в повышении гуморального иммунитета, так как продукция иммуноглобулинов обеспечивается кооперативным взаимодействием В-лимфоцитов при непосредственном участии C_3 комплемента (таблица 6).

Применение иммуностимулирующего препарата в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы способствовало эффективному снижению уровня белков воспалительной фазы – α_2 -глобулинов (церулоплазмин) и α_1 -глобулинов по сравнению с контролем и группой телят, которым препарат применяли в дозе 5 мкг АДВ/кг живой массы. Снижение уровня белков данной фракции указывает на затухание воспалительных процессов и улучшение состояния животных.

Исходя из результатов биохимических исследований, иммуностимулирующий препарат в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы оказал более выраженное воздействие на обменные процессы. Так, через 14 дней после введения препарата соотношение кальций/фосфор составляло в контрольной группе животных 1,10, что сви-

детельствует о нарушении минерального обмена. Данный показатель в первой и второй опытных группах составил 1,23 и 1,44 соответственно. В дальнейшем во второй группе, где применяли иммуностимулирующий препарат в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы, содержание кальция и фосфора на 30-й день исследования находилось в пределах физиологической нормы, что указывает на нормализацию обменных процессов и превосходит в эффективности применение препарата в дозе 5 мкг/кг (таблица 7).

Понижение активности печеночных аминотрансфераз, а именно аланинаминотрансферазы, наиболее выражено во второй опытной группе, где применяли препарат в дозе 10 мкг/кг.ж.м., и говорит о нормализации обменных процессов в печени и устранении дефицита белка (рисунок 4).

Таким образом, препарат «Иммуноновет» на основе бактериального липополисахарида в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы 1 раз в день 3 дня подряд позволил активизировать клеточные и гуморальные звенья иммунитета, нормализовать обменные процессы, что благоприятно отразилось на иммунном статусе и клиническом состоянии опытных животных.

ФАРМАКОЛОГИЯ

Таблица 6 – Динамика показателей гуморального иммунитета телят при ассоциативных паразитозах после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида, %

Дни исследований	Группы животных		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
g – глобулины (иммуноглобулины)			
до применения	12,35±0,75	12,42±0,23	12,17±0,27
на 7-й день	13,86±1,52	16,09±1,15*	12,13±1,21
на 14-й день	15,07±1,97*	17,26±0,82**	12,43±1,54
на 30-й день	13,20±1,24	16,22±0,43**	11,67±1,32
b– глобулины (C ₃ - комплимент)			
до применения	8,76±2,43	7,88±0,36	8,34±1,58
на 7-й день	9,44±1,52	10,34±1,06**	6,31±0,33
на 14-й день	11,40±0,65**	12,88±0,55***	8,38±0,96
на 30-й день	10,74±0,71*	12,84±0,64***	6,36±1,54
a2 – глобулины (церулоплазмин)			
до применения	7,90±2,64	9,22±1,35	9,67±2,17
на 7-й день	8,29±1,40	8,05±1,13*	10,5±0,25
на 14-й день	8,64±0,81	7,28±0,34***	9,37±0,40
на 30-й день	9,21±1,55	6,15±0,22***	10,79±2,36
a1– глобулины (антитрипсин)			
до применения	7,50±1,54	8,86±0,55	8,44±2,38
на 7-й день	6,24±0,25*	6,64±0,82**	9,0±0,29
на 14-й день	7,45±0,61	6,55±0,41***	8,46±0,22
на 30-й день	9,22±0,62	5,25±0,34***	11,51±1,85
альбумин			
до применения	44,49±1,74	46,12±1,88	49,95±3,60
на 7-й день	47,29±1,85	51,22±1,31*	46,92±1,51
на 14-й день	49,02±1,10	53,01±1,33**	46,35±1,33
на 30-й день	48,93±3,46	53,59±1,36*	45,28±2,67

Примечание – * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

Таблица 7 – Динамика биохимических показателей крови при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида

Период исследований	Группы телят		
	опытная группа 1	опытная группа 2	контроль
кальций, мМоль/л			
до применения препарата	1,82±0,26	1,74±0,11	1,78±0,06
на 7-й день	1,99±0,13	1,84±0,08	1,74±0,18
на 14-й день	1,95±0,15	2,04±0,13*	1,80±0,21
на 30-й день	1,91±0,09	1,98±0,05	1,72±0,10
фосфор, мМоль/л			
до применения препарата	1,74±0,04	1,92±0,02	1,63±0,07
на 7-й день	1,71±0,05	1,66±0,07	1,71±0,06
на 14-й день	1,58±0,05	1,42±0,06*	1,68±0,03
на 30-й день	1,67±0,08	1,37±0,04**	1,81±0,04

Примечание –* P<0,05; ** P<0,01

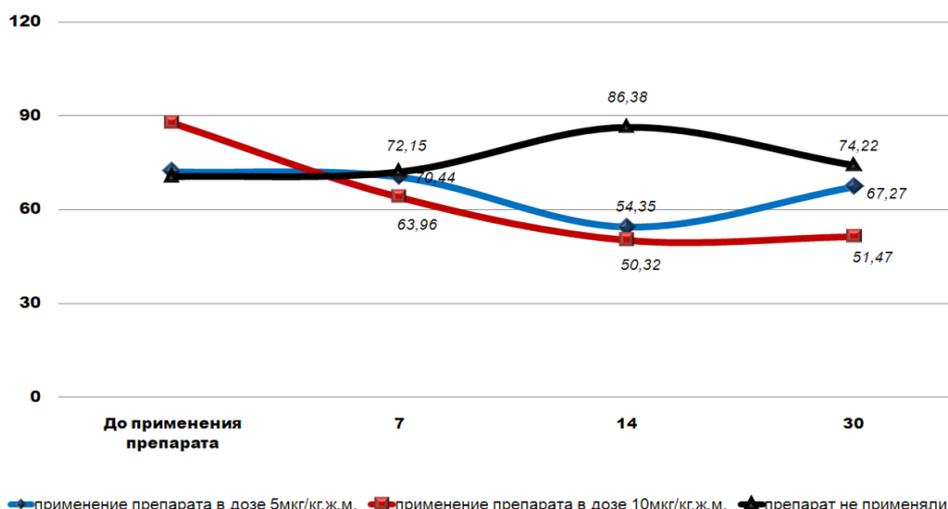


Рисунок 4 – Динамика аланинаминотрансферазы при ассоциативных паразитозах телят после применения иммуностимулятора на основе бактериального липополисахарида

ВЫВОДЫ

Наиболее эффективной иммуностимулирующей дозой нового препарата «Иммуновет» на основе бактериального липополисахарида является применение его внутримышечно в дозе 10 мкг АДВ/кг живой массы 1 раз в день 3 дня подряд.

Применение нового препарата «Иммуновет» при ассоциативных паразитарных болезнях телят обеспечило эффективное воздействие на:

а) **клеточный иммунитет** путем увеличения количества розеткообразующих Т-лимфоцитов на 19,41% и В-лимфоци-

тов на 50,89%, повышения количества моноцитов и макрофагов, а также снижения лейкоцитарной реакции;

б) **гуморальный иммунитет** путем повышения содержания иммуноглобулинов на 32,65% и белков системы комплемента С₃ на 63,86%, уменьшения количества циркулирующих иммунных комплексов;

в) **биохимические показатели** путем устранения гипопропротеинемии в крови телят и быстрой нормализации уровня биогенных макроэлементов (кальций и фосфор).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Паразитарные зоонозы (монография) / М.В. Якубовский [и др.]; под. ред. М.В. Якубовского. – Минск: Наша Идея, 2012. – 384 с.
- 2 Щемелева, Н.Ю. Применение иммуностимуляторов в ветеринарии / Н.Ю. Щемелева, М.В. Якубовский // Ветеринарное дело – 2012. – № 2 – С. 23 – 26.
- 3 Щемелева, Н.Ю. Экологически безопасные препараты для лечения и профилактики паразитарных болезней / Н.Ю. Щемелева // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы науч. конф., Витебск, 27 – 28 мая 2010 г. / ВГАВМ. Витебск, 2010.
- 4 Якубовский, М.В. Иммунобиохимические изменения при паразитарных болезнях телят и способы их коррекции современными препаратами / М.В. Якубовский, Н.Ю. Щемелева, С.И. Лавор, И.И. Кузьминский, О.П. Пепеляева // Сборник научных трудов «Сельское хозяйство – проблемы и перспективы». Вып.12. – Гродно: ГГАУ, 2013. – С. 270 – 276.
- 5 Якубовский, М.В. Мониторинг эпизоотической ситуации по стронгилятозам желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота/ М.В. Якубовский, С.И. Лавор, Н.Ю. Щемелева, И.И. Кузьминский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. –2010. – № 2. – С. 7–12.

УДК 619:616-08:618.19-002

Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук
Кузьминский И.И., кандидат ветеринарных наук
Насонов И.В., доктор ветеринарных наук
Иванов В.Е., кандидат ветеринарных наук
Лукьянчик С.А., кандидат сельскохозяйственных наук
Черник М.И., кандидат ветеринарных наук
Хендогина О.В., младший научный сотрудник

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

СРЕДСТВО АНТИСЕПТИЧЕСКОЕ «ЭКСТРАФИТОМАСТ» ДЛЯ САНАЦИИ ВЫМЕНИ ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Резюме

В представленных материалах речь идет о применении антисептического средства «Экстрафитомаст» для санации кожи вымени коров после доения, которое позволяет снизить заболеваемость коров субклиническим маститом в 1,5 раза, бактериальную обсемененность кожи сосков вымени коров по сравнению с первоначальными значениями в 5,35 раз. Сборное молоко от коров по качественным показателям соответствует сорту «экстра».

Summary

In this article we are talking about the antiseptic "Ekstrafitomast", which use for the processing of the skin of the cows udder after milking. "Ekstrafitomast" reduces the incidence of subclinical mastitis of cows by 1,5 times and number of bacterias on skin udder in comparison with the initial values in the 5,35 times. The cow milk is class «extra» on qualitative indicators.

Поступила в редакцию 13.03.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Основными причинами, снижающими качество молока, являются бактериальная обсемененность и повышенное содержание соматических клеток, что связано с отсутствием должного санитарного обеспечения и заболеваемостью коров маститами [1, 2, 5].

Для массовой санитарной обработки вымени коров в ряде хозяйств используют только воду, антисептических препаратов в некоторых хозяйствах нет в наличии. Возникает необходимость изыскания относительно дешевых, экологически безопасных средств, производимых из местного сырья, доступных по стоимости и не уступающих зарубежным препаратам по эффективности, обладающих высоким антимикробным эффектом, применение которых не требует ограничений при реализации производимого молока [3, 4, 6].

В настоящее время в Республике Беларусь на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработано средство антисептическое «Экстрафитомаст» ТУ ВУ 600049853.208–2014 на основе экстрактов лекарственных трав и органических кислот, применение которого способствует снижению обсемененности микроорганизмами кожи вымени лактирующих коров, прерывает передачу от коровы к корове патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Средство антисептическое «Экстрафитомаст» оказывает антимикробное действие на грамположительные и грамотрицательные бактерии (эшерихии, стафилококки, стрептококки), дрожжи. Средство относится к малоопасным веществам, не обладает хронической токсичностью, раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки и не вызывает сенси-

билизацию организма лабораторных животных. Средство антисептическое «Экстрафитомаст» ТУ ВУ 600049853.208–2014 внесено в Государственный реестр ветеринарных препаратов, зарегистрированных в Республике Беларусь, № 4748– 10–14 БА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ РАБОТЫ

Работа проводилась на базе отдела патологии размножения и ветеринарной санитарии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского» и на молочно-товарных фермах хозяйств Минской области.

Испытания проводили на коровах черно-пестрой породы, которые содержались в типовых коровниках на привязи. Животные имели среднюю упитанность. Животноводческие помещения находились в удовлетворительном санитарном состоянии, кормление животных производилось кормораздатчиком, рацион животных составлен согласно продуктивности, водой животные обеспечены вволю через автопоилки. Навозоудаление механизировано, навоз удаляется регулярно. Животные обеспечены выгульными двориками, где прогулки после доения проводятся постоянно. Доение коров осуществляется доильными аппаратами, мойка и санитарная обработка которых автоматизированы.

На МТФ трех хозяйств Минской области были сформированы три группы лактирующих коров (две опытные и одна контрольная) по 70 голов в каждой. Коровам первой опытной группы соски вымени обрабатывали антисептическим средством «Экстрафитомаст» путем их полного погружения на 2 секунды в специальные стаканчики, расход средства 6–8 см³ на животное. Коровам второй опытной группы соски вымени обрабатывали средством «Монклавит», производства фирмы Оргполимерсинтез (РФ, г. Санкт-Петербург) согласно инструкции по применению препарата. В третьей группе коров (контрольной) обработка сосков вымени не проводилась.

После формирования групп были проведены диагностические исследования коров на мастит быстрым маститным тестом с использованием диагностикума «Беломастин» и молочно-контрольных пластинок (МКП-2). Диагностические исследования проведены в начале, середине и конце опыта. Длительность опыта составляла 30 дней.

Для определения бактериальной обсемененности кожи вымени коров подопытных групп смывы отбирали у 10 голов каждой группы согласно «Методическим указаниям по санации вымени коров и санитарной обработки оборудования на молочно-товарных фермах и комплексах» (Минск 2006). Определение качественных показателей сборного молока (плотность, кислотность, массовая доля белка и молочного жира, общая бактериальная обсемененность, количество соматических клеток, ингибирующие свойства) осуществляли 1 раз в 10 дней.

Во время опыта проводили клинический осмотр животных, оценивали состояние молочной железы, сосков, учитывали состояние кожи вымени и сосков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенные диагностические исследования на мастит показали, что в начале опыта заболеваемость маститом на молочно-товарных фермах в среднем составляла: субклинические маститы в 1-й опытной группе – 14,1 %, во второй опытной – 15,7 %, в контрольной – 14,5 %. Через 15 дней опыта этот показатель составил 10,9; 14,1 и 18,4 %, через 30 дней – 8,6; 12,6 и 20,4 % соответственно (таблица 1).

При бактериологических исследованиях смывов сосков вымени коров количество микроорганизмов в 1 см³ (КОЕ/см³) в начале опыта в 1-й опытной группе составило 156 800±6 350, во второй опытной – 145 300±6 500, в контрольной группе – 148 200±5 900, по окончании эксперимента – 29 300±1 200, 38 900±2 800 и 250 100±10 200 соответственно (таблица 2).

Таблица 1 – Заболеваемость коров маститом после обработки сосков вымени антисептиками

Группы коров	срок обследования, дн.	Выявлено	
		клинический мастит, %	субклинический мастит, %
1-я опытная	начало	3,12	14,1
	15	2,34	10,9
	30	2,34	8,6
2-я опытная	начало	3,14	15,7
	15	2,36	14,1
	30	2,36	12,6
контроль	начало	3,12	14,5
	15	3,15	18,4
	30	4,7	20,4

Таблица 2 – Общая бактериальная обсемененность сосков вымени у коров (КОЕ/см³) при использовании антисептиков

Группа коров	Опыт		
	начало	середина	окончание
1-я опытная	156 800±6 350	110 400±5 700	29 300±1 200
2-я опытная	145 300±6 500	128 800±9 500	38 900±2 800
контрольная	148 200±5 900	154 700±6 200	250 100±10 200

При определении внешнего вида, цвета и консистенции молока, полученного от опытных и контрольных групп коров, установлено, что молоко было однородным, белого цвета со светло-желтым от-

тенком, без осадка, сгустков, хлопьев белка. Вкус и запах молока – свойственный свежему молоку, без посторонних запахов и привкуса (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты органолептических исследований показателей молока

Показатели	Группа коров	Результаты органолептических исследований
внешний вид и консистенция	1-я опытная	однородная жидкость без осадка, сгустков, хлопьев белка, включений вытопленного или взбитого жира
	2-я опытная	
	контрольная	
цвет	1-я опытная	белый со светло-желтым оттенком, однородный по всей массе
	2-я опытная	
	контрольная	
вкус и запах	1-я опытная	чистые, свойственные свежему молоку, без постороннего привкуса и запаха
	2-я опытная	
	контрольная	

Исследование молока по физико-химическим показателям показало, что плотность молока в течение опыта в опытных и в контрольной группах составляла 1028 – 1029 кг/м³, кислотность – 16,8 – 17,1⁰ Т,

массовая доля белка – 3,35–3,39 %, молочного жира – 3,75 – 3,92 %. По чистоте молоко относилось к 1 группе. Ингибирующие свойства молока не установлены (таблица 4).

Таблица 4 – Физико-химические показатели молока после применения антисептиков

Показатели	Требования СТБ	Группа коров	Исследование через, дн.		
			начало	15	30
плотность, кг/м ³	1029	1-я опытная	1028	1029	1029
		2-я опытная	1029	1029	1029
		контрольная	1029	1029	1029
кислотность, °Т	16–18	1-я опытная	16,8	17,1	16,8
		2-я опытная	16,8	17,0	16,8
		контрольная	16,9	17,0	18,1
молочный жир, %	3,6	1-я опытная	3,75	3,82	3,92
		2-я опытная	3,76	3,81	3,87
		контрольная	3,78	3,80	3,80
массовая доля белка, %	3,0	1-я опытная	3,35	3,38	3,39
		2-я опытная	3,35	3,38	3,39
		контрольная	3,34	3,37	3,38
группа чистоты, не ниже	1	1-я опытная	1	1	1
		2-я опытная	1	1	1
		контрольная	1	1	2
ингибирующие свойства	отсутствуют	1-я опытная	отсутствуют		
		2-я опытная	отсутствуют		
		контрольная	отсутствуют		

При постановке редуцтазной пробы с использованием метиленового синего установлено, что обесцвечивание смеси метиленовой сини и молока проходило в течении более 6 часов. Полученные результаты исследований позволяли отнести исследуемые опытные пробы молока к 1 классу, в контроле в конце опыта – ко 2 классу. Проведенные микробиологические исследования путем посева на питательные среды с последующими разведениями показали, что в сборном молоке коров 1-й опытной группы в начале опыта содержалось КМАиФМ (КОЕ/см³) 60 500±7500, в середине – 58 200±5800 и в конце опыта 42 500±3100, во 2-й опытной группе – 61 200±3500, 60 000±6500 и 56 000±5900, в контрольной – 60 800±9700, 73 200±7200 и

105 000±10800 соответственно. Содержание соматических клеток в 1 см³ молока коров 1-й опытной группы в начале опыта составляло 480 000±9500, в середине – 250 000±11100, в конце – 150 000±7800, во 2-й опытной группе – 490 000±9200, 290 000±8350 и 200 000±6500 и контрольной – 495 000±4200, 493 000±1700 и 499 000±500 соответственно (таблица 5).

Полученные данные по физико-химическим свойствам, микробиологическому показателю и содержанию соматических клеток позволяют отнести пробы исследуемого молока от коров опытных групп согласно Требованиям СТБ 1598-2006, «Изменения № 2» к сорту «экстра», контрольной группы – к I сорту.

Таблица 5 – Результаты исследования микробиологических показателей и содержания соматических клеток в молоке

Показатели	Требования СТБ	Группа коров	Исследование через, дн.		
			начало	15	30
КМАиФМ, (КОЕ) в 1мл молока, не более	100 000	1-я опытная	60500±7500	58200±5800	42500±3100
		2-я опытная	61200±3500	60000±6500	56000±5900
		контроль	60800±9700	73200±7200	105000±10800
количество соматических клеток в 1мл молока, не более	300 000	1-я опытная	480000±9500	250000±11100	150000±7800
		2-я опытная	490000±9200	290000±8350	200000±6500
		контроль	495000±4200	493000±1700	499000±500

ВЫВОДЫ

1 Применение средства антисептического «Экстрафитомаст» для санации кожи сосков вымени коров позволяет профилактировать заболеваемость коров субклиническим маститом с 14,1 до 8,6 %.

2 Применение средства антисептического «Экстрафитомаст» обеспечило снижение бактериальной обсемененности кожи сосков вымени коров в 5,35 раз, при

этом в контрольной группе этот показатель увеличился в 1,6 раза.

3 Сборное молоко от коров опытных групп по внешнему виду, консистенции, цвету, вкусу, запаху, физико-химическим и микробиологическим показателям и содержанию соматических клеток согласно СТБ 1598-2006 Изменений № 2 «Молоко коровье. Требования при закупках» соответствовало сорту «экстра».

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Архипов, А.А. Адекватное лечение при острых маститах – залог благополучия стада / А.А. Архипов, А.Т. Столяр // *Ветеринария*. – 2008. – №11. – С. 15–17.
- 2 Богуш, А.А. Противомаститные мероприятия на животноводческих комплексах / А.А. Богуш, Т.Н. Каменская, В.Е. Иванов, С.А. Лукьянчик // *Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария* - № 4 – 2005 г С. 66–69
- 3 Иващура, А.И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров / А.И. Иващура. – М.: Росагропромиздат., 1991. – 240 с.
- 4 Курак, Ф.С. Совершенствование технологии машинного доения коров на основе разработки и применения новых биотехнических способов: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Жодино, 2003.
- 5 Шахов, А.Г. Неотложные задачи профилактики мастита у коров / А.Г. Шахов, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов [и др.] // *Ветеринария*. – №8. – 2000. – С.3–7.
- 6 Willtt, S., Kirpes, J., Fluharty, M. An economic analysis of mastitis «Research Bull». Agrikultural Research Center Washington State University – 1982. – P. 1–14.



**ЭКСПОЗИЦИЯ РУП «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ
ИМ. С.Н. ВЫШЕЛЕСКОГО» НА 25-Й МЕЖДУНАРОДНОЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ
ВЫСТАВКЕ «БЕЛАГРО-2015» В ПЕРИОД С 02 ПО 06 ИЮНЯ 2015 Г.**

Учитывая широту и инновационную актуальность представленных образцов, стенд Института пользовался повышенным интересом. Всего в ходе работы выставки были проведены деловые переговоры с представителями более 20 предприятий - потенциальных партнеров из Татарстана, Туркменистана, Литвы, Украины, России, Израиля и др.. Понимание важности проводимой Институтом работы имеется у Академии наук, что стало предпосылкой для пристального внимания его руководства к стенду.



В связи с наметившейся тенденцией повышения заинтересованности со стороны предприятий отрасли к разработкам Института на экспозиции были представлены натуральные образцы продукции, получившей признание заказчиков, а также образцы последних разработок:

- *Вакцина «ПНЕВМОБАКТ» инактивированная эмульгированная против пневмонии телят;*
- *Вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики колибактериоза, сальмонеллёза, клебсиеллёза и протееза крупного рогатого скота;*
- *Вакцина инактивированная против пастереллеза и бордетеллеза свиней;*
- *Вакцина против актинобациллярной плевропневмонии свиней эмульгированная;*
- *Вакцина живая против реовирусного теносиновита цыплят из штамма «КМИЭВ-V118»;*
- *Вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики сальмонеллёза птиц;*
- *Вакцина живая лиофилизированная для профилактики оспы овец;*
- *Вакцина инактивированная «ПОЛИВАК» против бешенства, парвовирусного энтерита, чумы и инфекционного гепатита плотоядных животных;*
- *Препараты ветеринарные: «Белэндомаст», «Наноселен», «Кума-лакт», «Антианемин Форте», «Метросолхин», «Рибаглутам», «Протостат», «Янсевит», «Полипарацид»;*
- *Раствор диагностический «Беломастин»;*
- *Набор тест-сывороток для типирования адгезивных антигенов Escherichia coli F4 (K88), F5(K99), F6 (987P), F41, A20 (Att25);*
- *Средства дезинфицирующие: «Криокс», «Экстрафитомаст», «Эколин-септ», «Надкарбосепт» и т.д..*



РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» благодарит организаторов выставки за высокий уровень подготовительной работы, позволившей превратить 25 Международную специализированную выставку «Белагро-2015» в хорошую площадку для налаживания деловых контактов с заинтересованными предприятиями и организациями.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!
26-27 ноября 2015 года
в г. Минске состоится
Международная научно-практическая конференция

**«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В
АГРАРНО-ПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ»**

Организатор конференции – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».
Рабочий язык конференции – русский.

**ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАБОТЫ
КОНФЕРЕНЦИИ:**

- *Биотехнологические основы производства противобактериальных биопрепаратов;*
- *Биотехнологические основы производства противовирусных биопрепаратов;*
- *Производство биологически активных и пробиотических препаратов;*
- *Биотехнологические основы ведения животноводства.*

Внимание!

К участию в конференции приглашаются ведущие ученые и молодые специалисты из различных регионов Беларуси, а также стран ближнего и дальнего зарубежья.

Статьи и тезисы докладов будут опубликованы в материалах конференции.

С целью своевременного формирования программы конференции и подготовки статей и тезисов в печать просим Вас выслать материалы до 1 июля 2015 в адрес оргкомитета с пометкой «на конференцию».

Участие в конференции и публикация материалов – бесплатно!

Условия участия

Необходимо в срок до 1 июля 2015 года представить в электронном варианте на адрес электронной почты knir@tut.by отдельными файлами заявку на участие, материалы для публикаций.

Требования к оформлению материалов

К статье на конференцию должны быть приложены: сопроводительное письмо соответствующего учреждения (организации); реферат объемом от 500 до 1000 знаков на русском и английском языках, выполненный на компьютере (с указанием названия статьи и Ф.И.О. автора); контактная информация – фамилия, имя и отчество автора полностью, занимаемая должность, ученая степень, звание и полное наименование учреждения (организации). Кроме того, должны быть указаны телефоны и адрес авторов. В случае, если статья написана коллективом авторов, сведения должны подаваться по каждому автору отдельно; экспертное заключение организации о возможности опубликования.

Статьи на конференцию оформляются на русском языке в редакторе MS Word: шрифт – **Times New Roman**, размер – **14 pt**, интервал – **одинарный**.

Параметры страницы: левое поле – 30 мм, правое, верхнее и нижнее поля – по 20 мм. На первой строке – **УДК**. Ниже через пробел – **название статьи прописными буквами** по центру строки, без переноса слов. Ниже через пробел по центру строки – **фамилии и инициалы авторов** (желательно не более 5-ти). Ниже по центру строки строчными буквами **название учреждения, город, страна**. Ниже с абзацного отступа в 1,0 см располагается текст статьи, состоящий из следующих элементов: **введение; материалы и методы исследований; результаты исследований; заключение**. Заключение должно быть завершено четко сформулированными выводами. Далее через пробел жирным курсивом – **литература**.

Объем статьи – не более пяти страниц книжного формата А4.

От одного автора может быть принято не более двух работ в личном или коллективном исполнении.

Редакционный совет оставляет за собой право отклонять материалы, которые не соответствуют тематике либо оформлены с нарушением правил.

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А.

Подписано в печать 27.05.2015 г.

Формат 60x84^{1/8} Бумага офсетная.

Гарнитура Таймс.

Усл. печ. л 10,23 Тираж 100 экз. Заказ № 130

220003, г. Минск, ул. Брикета,28.

KNIR@tut.by

Отпечатано на полиграфической базе
РУП «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМ. С.Н. ВЫШЕЛЕССКОГО»