

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ
И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
И СВИНЕЙ**

Материалы Международной научно-практической конференции

Минск, 27 октября 2023 г.

Минск
«Беларуская навука»
2023

УДК 619:616-08:[636.2+636.4](082)

ББК 48.7я43

А43

Рекомендовано Ученым советом РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» (протокол № 8 от 09.06.2023 г.)

С о с т а в и т е л ь

кандидат ветеринарных наук, доцент В. В. Жалдыбин

Р е д а к ц и о н н а я к о л л е г и я:

В. В. Жалдыбин (гл. редактор), И. В. Насонов (зам. гл. редактора),
М. П. Кучинский, Д. С. Борисовец, М. А. Гласкович, Н. А. Ковалёв,
Д. В. Бучукури, А. Н. Притыченко, Н. Ю. Щемелёва, Т. Н. Каменская

Р е ц е н з е н т ы:

доктор биологических наук, доцент Е. А. Капитонова,
доктор ветеринарных наук, профессор В. В. Малашко

А43 **АКТУАЛЬНЫЕ** вопросы диагностики, профилактики и лечения заболеваний крупного рогатого скота и свиней : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27 октября 2023 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского ; сост. В. В. Жалдыбин ; редкол.: В. В. Жалдыбин (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2023. – 249 с.

ISBN 978-985-08-3063-0.

В сборнике представлены материалы, отражающие современное состояние, проблемы и перспективы развития животноводства и ветеринарной медицины, а также результаты экспериментальных исследований по разработке средств и способов профилактики и лечения заразных и незаразных болезней сельскохозяйственных животных – крупного рогатого скота и свиней.

Издание рассчитано на широкий круг специалистов в области ветеринарии и смежных с ней наук.

УДК 619:616-08:[636.2+636.4](082)

ББК 48.7я43

ISBN 978-985-08-3063-0

© РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» НАН Беларуси, 2023

© Оформление. РУП «Издательский дом «Беларуская навука», 2023

1. ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ

УДК 619:614.4

А. А. Русинович,

доктор ветеринарных наук, доцент

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

ВЕТЕРИНАРНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ НАССР ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ МЯСА И МЯСОПРОДУКТОВ

Резюме. Несоблюдение норм и правил при производстве и рыночном обороте пищевых продуктов может приводить к возникновению негативных инцидентов относительно их вредного влияния на здоровье потребителей. Основной задачей при их производстве является обеспечение их безопасности и эпизоотического благополучия. Определенная роль в этом деле отводится системе НАССР (от англ. «Hazard Analysis and Critical Control Points» – анализ рисков и критические точки контроля, международные нормы снижения риска опасности пищевых продуктов) по стандартам менеджмента безопасности пищевой продукции ИСО 1470 и ИСО 22000.

В основе разработки, внедрения и функционирования системы НАССР лежит выполнение предварительных условий и программ профилактических мер согласно требованиям ветеринарного законодательства.

Ключевые слова: ветеринарная оценка, система НАССР, безопасность, пищевые продукты, ветеринарное законодательство, ветеринарная сертификация.

Summary. Non-compliance with the rules and regulations in the production and marketing of food products can lead to negative incidents regarding the harmful effects on the health of consumers. The main task in their production is to ensure their safety and epizootic well-being. A certain role in this matter is assigned to the HACCP system according to ISO 1470 and ISO 22000 food safety management standards.

The development, implementation and operation of the HACCP system is based on the fulfillment of preconditions and programs of preventive measures in accordance with the requirements of veterinary legislation.

Keywords: veterinary assessment, HACCP system, safety, food products, veterinary legislation, veterinary certification.

Введение. Безопасность пищевых продуктов обусловлена отсутствием в них биологических, химических и физических опасностей, которые могут возникать на любом этапе пищевой цепи. Следовательно, она обеспечивается посредством объединенных усилий всех ее участников.

В ней задействованы организации по производству кормов и первичного сырья, по изготовлению пищевых продуктов, их транспортировке, хранению и реализации, включая производителей оборудования, упаковочных материалов, моющих средств и различного рода пищевых добавок и ингредиентов.

В случае несоблюдения действующих норм и правил участниками пищевой цепи могут возникать негативные инциденты относительно вредного влияния небезопасных пищевых продуктов на здоровье потребителей. Чаще всего они возникают от использования пищевых продуктов животного происхождения, содержащих патогенные микроорганизмы или их токсины, а также вредные химические соединения.

В качестве примеров могут служить губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, почечно-гемолитический синдром людей, вызванный высокопатогенным штаммом кишечной палочки, ежегодные эпидемические вспышки пищевого сальмонеллеза, листериоза, диоксиновые и меламиновые инциденты со свининой и молочными продуктами и ряд других примеров. В США ежегодно только пищевым сальмонеллезом заболевают 1,4 млн человек, регистрируется и подтверждается порядка 40 тыс. случаев, а ежегодно умирает 380–400 человек. В этой стране общие издержки, связанные с сальмонеллезом, за год составляют до 3 млрд долл. США, а в Дании на протяжении ряда лет расходы в соответствии с программой контроля сальмонеллеза ежегодно составляли 15,5 млн долл. США [2].

Новые технологии производства пищевых продуктов, широкое использование вспомогательных веществ, в том числе различных пищевых добавок, на фоне ряда экологических проблем в значительной мере повышают риски появления на рынке опасных пищевых продуктов. Перечисленное требует принятия соответствующих мер как со стороны производителей, так и от контролирующих государственных органов по недопущению таких инцидентов.

Одной из таких мер служат надлежащая разработка, внедрение и функционирование системы анализа рисков и контрольных критических точек (НАССР) по стандартам менеджмента безопасности пищевой продукции ИСО 1470 или ИСО 22000, без которой операторы продовольственного рынка не могут быть его участниками.

Материалы и методы. Для подготовки статьи использованы материалы международных научно-практических конференций, литературные данные, документы ветеринарного законодательства Республики Беларусь, стран – торговых партнеров Беларуси, Европейского союза, рекомендации Санитар-

ного кодекса наземных животных Международного эпизоотического бюро, информация Министерства иностранных дел Республики Беларусь по запросам Министерства сельского хозяйства и продовольствия относительно ветеринарной деятельности в 41 стране мира 4 континентов (2009 г.), а также собственный научно-практический опыт [1–6].

Основная часть. Целью ранее указанных стандартов является гармонизация и исполнение на мировом уровне организациями, участвующими в пищевой цепи, требований к менеджменту безопасности пищевых продуктов. Мероприятия в рамках этих стандартов регламентируются нормативными и законодательными требованиями. Они предусматривают выполнение необходимых условий проведения ветеринарных мероприятий, производства, переработки, транспортировки, хранения и реализации продуктов животного происхождения, позволяющих проводить оценку рисков на всех этапах пищевой цепи («от фермы до стола») с определением критических контрольных точек.

Международные подходы и требования указанных стандартов, как свидетельствуют данные проведенного анализа, реализуются на основе следующих принципов:

- первоочередная ответственность за безопасность продуктов возлагается на юридических лиц и индивидуальных предпринимателей, участвующих в пищевой цепи;
- гарантирование безопасности на протяжении всей пищевой цепи, начиная от производства сырья;
- поддержание низкотемпературного режима во всей цепи для продуктов, которые не могут храниться при температуре окружающей среды, в особенности для замороженных;
- выполнение требований при производстве пищевых продуктов на основе выявления опасных факторов, определения критических контрольных точек и критических пределов, создания системы мониторинга, разработки системы корректирующих воздействий, разработки процедуры проверок (валидации и верификации) и подготовки системы документации;
- соблюдение на протяжении всей пищевой цепи соответствующих ветеринарно-санитарных и санитарно-гигиенических норм и правил, так называемые предварительные условия и программы профилактических мер, которые лежат в основе разработки, внедрения и функционирования системы НАССР;
- необходимость установления в процессе производства и рыночного оборота таких продуктов микробиологических показателей и требований к контролю температуры на основе научной оценки риска;
- обеспечение страной-экспортером соответствия условий производства и показателей безопасности продовольственного сырья и пищевых продук-

тов животного происхождения тем же требованиям, которые предъявляются к таковым в стране-импортере.

Перечисленные принципы в процессе производства продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения в основном реализуются посредством исполнения норм и правил ветеринарного законодательства. Более того, ветеринарные специалисты являются основным звеном в допуске этой продукции на рынок посредством ветеринарной сертификации. Ветеринарные сертификаты свидетельствуют об эпизоотическом благополучии места ее происхождения и безопасности в ветеринарно-санитарном отношении. Международная практика такова, что этот документ, как правило, органами здравоохранения, метрологии и стандартизации или другими службами не оформляется.

В этих условиях важным является выполнение контрольных и надзорных функций ветеринарными специалистами организаций, осуществляющих производство мяса и мясопродуктов, а также ветеринарными инспекторами государственной ветеринарной службы, за исполнением ветеринарного законодательства, в том числе и оценка соответствующих ветеринарных норм и правил, регламентированных в системе НАССР.

Ветеринарной оценке эффективности функционирования системы НАССР в организациях, осуществляющих производство мяса и мясопродуктов, как показывает анализ, подлежит выполнение предварительных условий и программы профилактических мер, а именно:

- наличие государственной регистрации производственного объекта;
- состояние ветеринарного благополучия в зоне деятельности этих организаций посредством предоставления сопроводительной достоверной ветеринарной документации на животных и сырье;
- ветеринарно-санитарное состояние объектов этих предприятий (место предубойного осмотра, карантинное помещение, изолятор, место убоя и др. в зависимости от вида животных, производимой продукции и т. д.);
- выполнение ветеринарно-санитарных правил осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов;
- результаты и достоверность проводимых лабораторных исследований проб от животных на предмет состояния их здоровья и продукции животного происхождения на ее безопасность в ветеринарно-санитарном отношении;
- наличие соответствующих нормативных правовых актов (НПА) и технических нормативных правовых актов (ТНПА), предусмотренных национальным ветеринарным законодательством, и качество исполнения требований этих документов;
- порядок функционирования и эффективность системы НАССР в аспекте требований ветеринарного законодательства.

Результаты ветеринарной оценки эффективности функционирования системы НАССР в организациях, осуществляющих производство мяса и мясопродуктов, оформляются согласно требованиям разработанного нами формуляра в баллах по 159 пунктам с максимальным количеством в 335 баллов с применением формулы

$$A = \frac{a \cdot 100}{v - n/k},$$

где A – процент оценки; a – полученное число баллов; v – общее число баллов; n/k – количество баллов, не имеющих отношения к объекту оценки.

В зависимости от полученных результатов устанавливается 5 степеней эффективности функционирования системы НАССР с их характеристикой: наивысшая – 90–100 %; высокая – 80–90 %; средняя – 70–80 %; низкая – 60–70 %; опасная – ниже 60 %.

Наивысшая степень эффективности НАССР характеризуется выполнением ветеринарных, ветеринарно-санитарных норм и правил, предусмотренных ветеринарным законодательством, на 90–100 %. Несоответствия в пределах 10 % не влияют на показатели безопасности продукции животного происхождения в ветеринарно-санитарном отношении. Система НАССР разработана и функционирует согласно действующему стандарту. Эти организации могут без ограничений экспортировать свою продукцию. Их контролируют государственные ветеринарные инспекторы не более чем 1 раз в 12 месяцев.

Высокая степень эффективности НАССР характеризуется хорошим уровнем выполнения ветеринарных, ветеринарно-санитарных норм и правил, предусмотренных ветеринарным законодательством. В этих организациях выполнение ветеринарно-санитарных норм и правил составляет от 80 до 90 %. Система НАССР разработана и функционирует согласно действующему стандарту. Несоответствия в пределах 10–20 % **не должны существенно** влиять на показатели безопасности продукции животного происхождения в ветеринарно-санитарном отношении. Эти организации могут экспортировать свою продукцию под постоянным ветеринарным инспекторским контролем. Они контролируются государственными ветеринарными инспекторами не реже 1 раза в 12 месяцев.

Средняя степень системы НАССР характеризуется удовлетворительным уровнем выполнения ветеринарных, ветеринарно-санитарных норм и правил, предусмотренных ветеринарным законодательством. В этих организациях выполнение ветеринарно-санитарных норм и правил составляет от 70 до 80 %. Система НАССР разработана и функционирует согласно действующему стандарту. Несоответствия в пределах 20–30 % могут **несущественно** влиять на показатели безопасности продукции животного происхождения в ветеринарно-санитарном отношении. Эти организации могут

экспортировать свою продукцию под постоянным ветеринарным инспекторским контролем. Контроль государственными ветеринарными инспекторами осуществляется не реже 1 раза в 6 месяцев.

Низкая степень эффективности НАССР с риском выпуска опасной в ветеринарно-санитарном отношении продукции животного происхождения характеризуется выполнением ветеринарно-санитарных норм и правил на 60–70 %. Система НАССР разработана и функционирует с неполным соответствием действующему стандарту. Нарушения в пределах 30–40 % могут **существенно** влиять на показатели безопасности продукции животного происхождения в ветеринарно-санитарном отношении. Эти организации реализуют свою продукцию только на внутреннем рынке и под постоянным инспекторским контролем. Они контролируются государственными ветеринарными инспекторами ежеквартально.

Опасная степень эффективности НАССР с высоким риском выпуска вредной в ветеринарно-санитарном отношении продукции животного происхождения характеризуется выполнением ветеринарно-санитарных норм и правил на менее чем 60 %, а также несоответствиями, связанными с качеством воды/льда, состоянием холодильного оборудования, контролем, борьбой с грызунами, когда требуется их немедленное устранение. Нарушения в пределах 40 % и более создают **реальную угрозу** выпуска на рынок опасной для здоровья потребителей продукции животного происхождения и осложнения эпизоотолого-эпидемической ситуации посредством возникновения опасной заразной патологии. Решением государственных ветеринарных инспекторов деятельность этих организаций приостанавливается (прекращается). Выработанная ими продукция до приостановки (прекращения) допускается в реализацию только после дополнительной ветеринарно-санитарной экспертизы. Они контролируются государственными ветеринарными инспекторами постоянно, без уведомления и указания сроков.

Заключение. Основной задачей организаций, осуществляющих производство мяса и мясопродуктов, является обеспечение их безопасности и эпизоотического благополучия в своей зоне посредством выполнения соответствующих норм и правил. Для ее выполнения определенная роль отводится системе НАССР. В этих организациях разработка, внедрение и функционирование системы НАССР носит обязательный характер. В случае невыполнения требований стандарта этой системы с опасной степенью эффективности функционирования производимая продукция не должна иметь доступа на рынок.

Фундаментом для разработки, внедрения и функционирования системы НАССР является выполнение предварительных условий и программ профилактических мер, которые заложены в соответствующих НПА и ТНПА ветеринарного законодательства.

Литература

1. *Кодекс здоровья наземных животных* МЭБ / Всемирная организация здравоохранения животных. – 19-е изд. – Париж, 2010. – С. 79–84.
2. *Костенко, Ю. Г.* Руководство по санитарно-микробиологическим основам и предупреждению рисков при производстве и хранении мясной продукции / Ю. Г. Костенко. – М. : Техносфера, 2015. – 636 с.
3. *Макаров, В. В.* Основы учения об инфекции : учеб. пособие / В. В. Макаров, А. К. Петров, Д. А. Васильев. – М. : РУДН ; Ульяновск : УлГАУ, 2018. – 160 с.
4. *Об установлении* особых правил организации официального контроля над продукцией животного происхождения, предназначенной для потребления человеком в пищу : регламент (ЕС) 854/2004 : принят 29.04.2004 / Официальный журнал Европейского союза L 139. – 30 апреля 2004 г. ; Европейский парламент ; Совет Европейского союза. – Страсбург, 2004. – 206 с.
5. *Русинович, А. А.* Успехи, перспективы и проблемы экспорта продовольствия Республики Беларусь. Ч. 1 / А. А. Русинович. Н. С. Мотузко // Наше сельское хозяйство. – 2019. – № 12. – С. 4–11.
6. *Шабалова, Т. А.* Проблемы растущих инфекционных и инвазионных угроз в XXI веке / Т. А. Шабалова, А. Ж. Василенко // Балтийский форум ветеринарной медицины 2011 : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф., 23–24 сентября 2011 г., г. Санкт-Петербург. – СПб. : НОИОР, 2011. – С. 183–185.

УДК 636.084.52

Л. Я. Юшкова,

доктор ветеринарных наук, профессор¹

Н. А. Донченко,

доктор ветеринарных наук,
член-корреспондент Российской академии наук¹

И. В. Мельцов,

кандидат ветеринарных наук, доцент²

¹*Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Новосибирская область, п/г Краснообск, Российская Федерация*

²*Иркутский государственный аграрный университет имени А. А. Ежовского, п. Молодёжный, Российская Федерация*

ОРГАНИЗАЦИЯ МЕР ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ В СВЯЗИ С ЛИКВИДАЦИЕЙ ВСПЫШКИ ОСОБО ОПАСНОЙ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ (НА ПРИМЕРЕ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ)

Резюме. До 2017 г. африканская чума свиней (АЧС) регистрировалась только в европейской части России, а с марта 2017 г. стала регистрироваться также в азиатской части Российской Федерации (Иркутская, Тюменская и Омская области, Красноярский край).

В 2017 г. было зарегистрировано 153 очага (132 – среди домашних свиней, 21 – среди диких). Для достижения эффективности мероприятий необходимо воздействовать на все пути возможной передачи вируса. Но контролю практически не подвергаются такие пути передачи вируса АЧС, как пищевые отходы, грызуны, а также нелегальный оборот пищевых продуктов. Каждый случай возникновения очага карантинной болезни животных требует индивидуального подхода при разработке плана мероприятий по ликвидации очага и оздоровлению поголовья животных.

Ключевые слова: чума свиней, эффективность мероприятий, карантин.

Summary. Until 2017, African swine fever (ASF) was registered only in the European part of Russia, and from March 2017, ASF began to be registered in the Asian part of the Russian Federation (Irkutsk Tyumen and Omsk regions, Krasnoyarsk Territory). In 2017, 153 outbreaks were registered (132 among domestic pigs, 21 among wild). To achieve the effectiveness of measures, it is necessary to influence all ways of possible transmission of the virus. But such routes of transmission of the ASF virus as food waste, rodents, as well as illegal circulation of food products are practically not subject to control. Each case of a focus of quarantine animal disease requires an individual approach when developing an action plan to eliminate the focus and improve the livestock.

Keywords: swine fever, effectiveness of measures, quarantine.

Африканская чума свиней. В 1997–1998 гг. в Голландии и Бельгии было уничтожено более 12 млн голов свиней, потери составили 3 млрд долл. США. С 2007 по 2017 г. на территории Российской Федерации было зарегистрировано 1232 очага АЧС, 54 инфицированных объекта: 471 очаг среди диких кабанов и 761 – среди домашних свиней. В 2017 г. зарегистрировано 153 очага (132 – среди домашних свиней, 21 – среди диких). За девять лет прямой ущерб от АЧС составил 5 млрд рублей, а совокупный – от 50 до 70 млрд рублей. С начала регистрации первых случаев АЧС в России в 2007 г. общие потери поголовья составили 800 тыс. свиней. До 2017 г. АЧС регистрировалась только в европейской части России, а с марта 2017 г. стала регистрироваться также в азиатской части (Иркутская, Тюменская и Омская области, Красноярский край). Передача вируса может произойти разными путями – через транспорт, пищевые продукты, биологические и пищевые отходы, от больных животных, особенно при их перевозке, при контакте домашних свиней с дикими кабановыми при их свободном выгульном содержании, а также через кровососущих насекомых и грызунов. Для достижения эффективности мероприятий необходимо воздействовать на все пути возможной передачи вируса, при этом надо учитывать, что весь легальный оборот пищевых продуктов, кормов и животных контролируется. Но контролю практически не подвергаются такие пути передачи вируса АЧС, как пищевые отходы, грызуны, а также нелегальный оборот пищевых продуктов.

В настоящее время в Российской Федерации нет правил сбора и обращения пищевых отходов. Поэтому необходимо разработать и принять на федеральном уровне Ветеринарно-санитарные правила сбора и оборота пищевых отходов в Российской Федерации. В 2018 г., анализируя статью

журнала «Ветеринария и кормление», мы изучили опыт организации защиты при ликвидации АЧС в Иркутской области за 7 дней. Также наши работы по данной теме опубликованы в сборниках Ставропольских конференций, но, учитывая важность этой проблемы, мы дополняем знания по популяризации этого заболевания и карантинных мер при ликвидации и нераспространении АЧС. Одно из приоритетных направлений государственной политики – повышение качества жизни граждан и экономических показателей, не может быть реализовано без достижения высокого уровня биологической безопасности на объектах содержания и убоя животных, а также на объектах переработки и оборота произведенной продукции, включая безопасность пищевых продуктов. В Российской Федерации также зарегистрированы значительные миллиардные экономические потери при появлении и распространении африканской чумы свиней. Значительную опасность для экономики страны и здоровья людей представляют и такие болезни животных, как ящур, сибирская язва, бруцеллез, туберкулез и другие заразные болезни животных. Например, Петр I, понимая роль ветеринарной службы, ввел ее специалистов в состав жандармерии. В его эпоху лица, виновные в торговле недоброкачественным мясом, строго наказывались.

Внесение представления высшему должностному лицу субъекта Российской Федерации о необходимости установления карантина по особо опасной болезни животных. В марте 2017 г. на территории Иркутского района действовал режим чрезвычайной ситуации, связанный со вспышкой африканской чумы свиней в личном подсобном хозяйстве гр. В. П. Берланюка, расположенном в деревне Куда. На основании экспертизы ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» № ЭМ 03-22-28 от 24.03.2017 губернатору Иркутской области направлено представление от 24.03.2017 № 02-77-701/17. Признаки заболевания начались 18.03.2017, а 24.03.2017 все свиньи, содержащиеся в указанном хозяйстве (40 голов), пали. Указом Губернатора Иркутской области № 49-уг от 25.03.2017 установлены ограничительные мероприятия (карантин) на территории Иркутской области. Определены границы:

1) эпизоотического очага, расположенного по адресу: Иркутская область, Иркутский район, деревня Куда, ул. Тепличная, д. 35 «В»;

2) первой угрожаемой зоны в пределах границ Хомутовского муниципального образования (за исключением поселка Плишкино);

3) второй угрожаемой зоны в пределах границ Иркутского районного муниципального образования (за исключением Голоустненского муниципального образования, Дзержинского муниципального образования, Максимовского муниципального образования, Мамоновского муниципального образования, Молодежного муниципального образования, Смоленского муниципального образования, Большереченского муниципального образова-

ния, Листвянского муниципального образования, Марковского муниципального образования).

В целях предупреждения распространения и ликвидации очага африканской чумы свиней на входе и въезде на территорию эпизоотического очага оборудован дезбарьер, организована смена одежды, обуви при выходе с территории эпизоотического очага, дезобработка транспортных средств при их выезде с территории эпизоотического очага, на дорогах, ведущих из эпизоотического очага к внешним границам первой зоны, установлены круглосуточные контрольно-пропускные пункты с привлечением сотрудников органов внутренних дел и ветеринарных государственных инспекторов службы ветеринарии Иркутской области.

Отчуждение животных и изъятие продуктов животноводства у населения в связи с ликвидацией вспышки особо опасной болезни животных. В период с 26.03.2017 по 31.03.2017, в соответствии с Решением о необходимости проведения отчуждения животных и изъятия продуктов животноводства при ликвидации очагов особо опасных болезней животных Управления Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору по Иркутской области и Республике Бурятия, на территории Хомутовского муниципального образования (первой угрожаемой зоны) проведено отчуждение 1327 голов свиней в 280 дворах общей массой 80 834,9 кг. Убой отчужденных животных осуществляется бескровным методом путем инъекции Дитилина. После удаления животного с территории подворья проводилась дезинфекция помещения, где содержалось животное, и территории 4%-м раствором едкого натра. С целью проведения эпизоотического мониторинга по распространению вируса африканской чумы свиней для проведения лабораторных исследований в ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» от отчужденных животных (свиней) отобран биоматериал, в период с 27.03.2017 по 30.03.2017 отобрано 57 проб. ДНК вируса АЧС не выявлено.

В период с 24.03.2017 по 29.03.2017 в эпизоотическом очаге проведена разборка и сжигание деревянных конструкций и построек, кормов, сделана дезинфекция помещения, где содержались свиньи, а также дезинфекция почвы на территории очага. 31.03.2017 в эпизоотическом очаге сняли верхний слой почвы 10–15 см и закопали в специально вырытую земляную траншею на глубину 2 м. Дно образовавшегося углубления повторно равномерно засыпали хлорной известью и свежим грунтом, увлажнили водой. 27.03.2017 выявлен инфицированный объект – личное хозяйство гр. В. П. Берланюка по адресу: Иркутская область, Иркутский район, с. Хомутово, ул. Некрасова, д. 5, в котором были обнаружены мясо (свинина) замороженное, шпик свиной замороженный. В дальнейшем были проведены мероприятия по локализации инфицированного объекта, установлен дезбарьер, проведе-

на дезинфекция места обнаружения биоматериала с последующим взятием смывов на контроль качества проведенной дезинфекции, дератизация, дезинсекция, дезакаризация.

В период с 01.04.2017 по 02.04.2017 проводились заключительные работы по сжиганию трупов отчужденных животных, закапыванию золы и других несгоревших неорганических остатков. Золу и несгоревшие неорганические остатки пересыпали гипохлоритом кальция, засыпали землей. 03.04.2017 получены результаты исследования диагностической ветеринарной лаборатории ОГБУ «Эхирит-Булагатская СББЖ» № 216 от 3 апреля 2017 г., № 268 от 3 апреля 2017 г. – качество заключительной дезинфекции в эпизоотическом очаге и инфицированном объекте удовлетворительное.

Ограничительные мероприятия (карантин) на подведомственной территории, где был зарегистрирован очаг АЧС, отменены указом Губернатора Иркутской области от 4 апреля 2017 г. № 60-уг. В период с 13.04.2017 по 14.04.2017 на основании распоряжения Правительства Иркутской области «О выделении бюджетных средств из резервного фонда Правительства Иркутской области» № 208-рп от 11 апреля 2017 г., службой ветеринарии Иркутской области была произведена выплата денежных средств собственникам продуктов животноводства, изъятых при ликвидации африканской чумы свиней на территории Хомутовского муниципального образования Иркутской области, в размере 12 378 542,69 рубля [2–4]. Финансирование и материально-техническое обеспечение мероприятий по предупреждению возникновения и ликвидации очагов заразных болезней животных осуществляется за счет средств бюджета субъектов Российской Федерации, а также с помощью средств, получаемых от оказания платных ветеринарных услуг [1, с. 15]. Ветеринарно-санитарные мероприятия по обеспечению биологической и пищевой безопасности в настоящее время основываются на международных договорах с участием Российской Федерации, которые в соответствии со статьей 15 Конституции Российской Федерации имеют высшую юридическую силу над нормативными правовыми актами Российской Федерации, а также основываются на федеральных законах «О техническом регулировании», «О качестве и безопасности пищевых продуктов», «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», законах Российской Федерации «О ветеринарии», «О защите прав потребителей», Кодексе Российской Федерации об административных правонарушениях и др.

Таким образом, несмотря на наличие общих действующих правил по борьбе с той или иной болезнью животных, большинство из которых разработаны в 60-е и 70-е гг. прошлого века без учета инновационных разработок последних лет, каждый случай возникновения очага карантинной болезни животных требует индивидуального подхода при разработке плана меро-

приятый по ликвидации очага и оздоровлению поголовья животных. В последние годы влияние на эпизоотическую обстановку оказывают не только крупные и средние хозяйства, занятые содержанием животных, но и личные подворья граждан.

Литература

1. *Концепция* повышения эффективности организации ветеринарно-санитарных мер для обеспечения биологической и пищевой безопасности в Российской Федерации на период 2018–2025 гг. Повышение сохранности сельскохозяйственных животных. – Новосибирск. – 67 с.

2. *Служба* ветеринарии Иркутской области о проделанной работе : отчет за 2014, 2016, 2017 гг. : 43–44 / Б. Н. Балыбердин [и др.]. – Иркутск, 2017. – 45 с.

3. *Донченко, Н. А.* Мониторинг изменения эпизоотического статуса по африканской чуме свиней / Н. А. Донченко, М. А. Амироков // Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу. Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности : материалы 82-й науч.-практ. конф. преподавателей и студентов, 26 апреля 2017 г., г. Ставрополь, СГАУ. – Т. 2. – С. 326–338.

4. *Опыт* организации при ликвидации АЧС в Иркутской области / Б. Н. Балыбердин [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 4. – С. 39–41.

УДК 619:578.835+619:616-092:612.017.1-008.64(636.22/28)

М. С. Струк,

старший научный сотрудник

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

РОЛЬ ВИРУСОВ В ЭТИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. В статье представлены данные о роли вирусов парагриппа-3, вирусной диареи и инфекционного ринотрахеита в этиологии развития вторичных иммунодефицитов молодняка крупного рогатого скота. Приведены результаты их влияния на основные показатели клеточного и гуморального иммунитета животных.

Ключевые слова: вторичный иммунодефицит, молодняк крупного рогатого скота, иммунитет, парагрипп-3, вирусная диарея, инфекционный ринотрахеит.

Summary. The article presents data on the role of parainfluenza-3 viruses, viral diarrhea and infectious rhinotracheitis in the etiology of the development of secondary immunodeficiencies in young cattle. The results of their influence on the main indicators of cellular and humoral immunity of animals are presented.

Keywords: secondary immunodeficiency, young cattle, immunity, parainfluenza-3, viral diarrhea, infectious rhinotracheitis.

Введение. Вирусные респираторные инфекции остаются наиболее распространенными патологиями молодняка крупного рогатого скота, имеющими в промышленном скотоводстве тенденцию роста. При этом известно, что латентные формы данных заболеваний приводят к формированию вторичных иммунодефицитов, представляющих собой приобретенный клинико-иммунологический синдром, при котором могут нарушаться либо отдельные компоненты иммунной системы, либо вся система в целом [1–3].

Развитие иммунодефицитного состояния утяжеляет течение основного заболевания, снижает эффективность его терапии, способствует формированию осложнений.

В то же время причины развития вторичных иммунодефицитов чрезвычайно разнообразны. По мнению ряда исследователей, вирусы, как патологические агенты, значительно чаще выступают фактором, провоцирующим механизм проявления данной патологии [4]. Это в первую очередь связано с тем, что вирусы обладают высокой тропностью к иммунокомпетентным клеткам, подавляя их функциональную активность, что ведет к более глобальным патологическим изменениям иммунной системы [5].

Подобное явление у молодняка крупного рогатого скота можно проследить после заболевания новорожденных такими вирусными инфекциями, как инфекционный ринотрахеит (ИРТ), вирусная диарея (ВД) и парегрипп-3 (ПГ-3). С помощью выявления причин развития вторичных иммунодефицитных состояний и их влияния на иммунобиологический статус возможно будет существенно улучшить результаты лечения основного заболевания и своевременно скорректировать последствия.

Материалы и методы. Диагноз на вирусные инфекции устанавливали ретроспективно с использованием серологических тестов по анализу сероконверсии антител у животных в начале заболевания и через 14 дней. Наличие антител выявляли с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

Для изучения клеточного и гуморального иммунитета при вирусных респираторных инфекциях телят были обследованы животные в возрасте 1,5–4 месяца различного клинического состояния – больные респираторными заболеваниями и клинически здоровые. Всего в опыте участвовали по 10 животных в каждой группе. Для выделения лимфоцитов из крови использовали метод дифференциального центрифугирования в градиенте различной плотности. Для идентификации Т-лимфоцитов использовали метод розеткообразования.

Фагоцитарную активность лимфоцитов и фагоцитарное число определяли методом, основанным на явлении фагоцитоза – реакции организма, проявляющейся в способности клеток-фагоцитов захватывать и переваривать чужеродные микроорганизмы [6].

Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по нефелометрическому методу Дорофейчука (1968) [7].

Бактерицидную активность сыворотки крови выявляли с помощью метода О. В. Смирновой и Т. В. Кузьминой [8].

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе. При проведении исследований учитывали следующие показатели: общий белок, альбумин, глобулины, альбумино-глобулиновое соотношение.

Результаты исследований. На основании обобщенных данных, полученных в ходе эпизоотического мониторинга неблагополучных хозяйств, установлено, что наиболее восприимчивыми оказались телята, возраст которых не превышал 30–45 дней. Число заболевшего молодняка от всего поголовья крупного рогатого скота составляло 30 %, а непроизводительное выбытие от количества заболевших животных – от 15 до 30 %.

Для установления роли вирусов в механизме развития вторичных иммунодефицитов исследовано 130 парных сывороток крови больных и переболевших респираторными заболеваниями телят 1–4-месячного возраста из 16 хозяйств и 160 парных сывороток крови клинически здоровых животных (табл. 1).

Таблица 1. Результаты сероконверсии антител к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 телят при ретроспективном анализе парных проб сывороток крови

Клинический статус телят	Количество исследованных парных проб / количество животных	Выявлено проб с сероконверсией, %		
		ИРТ	ВД	ПГ-3
Больные респираторными заболеваниями	130/65	40/61,5	32/49,2	57/87,7
Клинически здоровые	160/80	8/10	12/15	18/22,5

Результаты, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о том, что в этиологии вирусных инфекций телят существенную роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи и парагриппа-3 крупного рогатого скота. При этом наиболее частой причиной данной патологии и как одного из факторов, провоцирующих развитие вторичного иммунодефицита, выступает вирус парагриппа-3 (87,7 % животных, у которых установлена сероконверсия), на втором месте – вирус инфекционного ринотрахеита (61,5 %) и вирусная диарея (49,2 %). Однако сероконверсия отмечена и у клинически здоровых телят (22,5, 15 и 10 % соответственно), что свидетельствует о латентном течении болезни или проведенной вакцинации.

Для оценки состояния клеточного и гуморального иммунитета телят при вирусных инфекциях были обследованы животные возрастом 1–4 месяца различного клинического состояния – больные вирусными заболева-

Таблица 2. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у телят различного клинического состояния при вирусных инфекциях

Показатель	Больные	Клинически здоровые
Лимфоциты, %	46,6 ± 1,49	65,7 ± 1,79
Т-лимфоциты, %	24,3 ± 1,32	37,1 ± 1,02
В-лимфоциты, %	14,1 ± 0,78	18,9 ± 0,87
Фагоцитарная активность, %	39,5 ± 2,41	70,3 ± 3,35
Фагоцитарное число	2,36 ± 0,22	5,00 ± 0,17
Лизоцимная активность сыворотки крови, мкг/мл	0,75 ± 0,13	2,89 ± 0,19
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	38,3 ± 4,5	68,1 ± 2,77
Общий белок, г/л	57,12 ± 2,59	76,13 ± 6,13
Альбумин, г/л	35,08 ± 1,85	40,12 ± 2,38
Глобулины, г/л	21,89 ± 4,48	36,84 ± 7,39
А/Г-соотношение	1,55 ± 0,14	1,22 ± 0,07

ниями и клинически здоровые. Всего обследовано по 10 животных в каждой группе.

Результаты проведенных исследований (табл. 2) показывают, что у больных телят с клиническим проявлением вирусной инфекции количество лимфоцитов на 29,07 % ниже, количество Т-лимфоцитов – на 34,5 %, а В-лимфоцитов – на 25,4 % по сравнению со здоровыми телятами. Снижение данных показателей иммунного статуса указывает на неспособность иммунокомпетентных клеток специфически распознавать антигены и отвечать на них соответствующей иммунной реакцией.

Установлено, что у больных телят фагоцитарная активность ниже на 43,81 %, а фагоцитарное число – в 2,11 раза меньше по отношению к здоровым животным. Лизоцимная активность у больных телят ниже в 3,85 раза, а бактерицидная активность – на 43,7 %, чем у здоровых телят. Все эти изменения также свидетельствуют о патологии иммунной системы из-за угнетения клеточных факторов естественной резистентности.

Анализ данных, полученных при оценке негативного влияния вирусных инфекций на неспецифическое гуморальное звено иммунитета, показал, что у больных телят отмечается снижение концентрации общего белка на 24,97 %, альбуминов сыворотки крови – на 12,56 %, глобулинов – на 40,58 %, что свидетельствует об угнетении иммунного ответа организма. Таким образом, полученные результаты указывают на изменение физиологического и иммунобиологического статуса организма за счет снижения эффекторных звеньев иммунной системы и неспецифических факторов защиты, сопровождающихся значительным изменением параметров иммунологической защиты организма.

Заключение. Все вышеизложенное свидетельствует о том, что тяжелые последствия звенья иммунной системы претерпевают при болезнях вирусной этиологии, которые могут являться причиной развития вторичных иммунодефицитов у молодняка крупного рогатого скота. Осознание их роли в иммунологических нарушениях дает возможность своевременно корректировать подходы в лечении и профилактике с использованием средств направленного действия, с учетом уровня и степени нарушений отдельных функций в иммунной системе.

Литература

1. *Юров, К. П.* Вирусные заболевания крупного рогатого скота и овец в СССР (проблемы профилактики и борьбы) / К. П. Юров, Ю. Д. Караваев // Труды ВИЭВ. – 1991. – Т. 69. – С. 3–8.
2. *Приобретенные иммунодефицитные состояния у КРС в зоне экологического неблагополучия* / В. Н. Бочкарев [и др.] // Ветеринарная патология. – 2003. – № 2. – С. 8–14.
3. *Першин, Б. Б.* Стресс, вторичные иммунодефициты и заболеваемость / Б. Б. Першин. – М., 1994. – 190 с.
4. *Инфекционные болезни животных* / Е. С. Воронин [и др.] ; под ред. А. А. Сидорчука. – М. : Колос, 2007. – С. 453–455.
5. *Хаитов, Р. М.* Иммунология: структура и функции иммунной системы / Р. М. Хаитов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – С. 178–190.
6. *Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник* / И. П. Кондрахин [и др.] ; под ред. В. Н. Сайтаниди. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
7. *Бухарин, О. В.* Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О. В. Бухарин, Н. В. Васильев. – Томск, 1974. – 34 с.
8. *Смирнова, О. В.* Определение бактерицидной активности сыворотки методом нефелометрии / О. В. Смирнова, Т. А. Кузьмина // Журнал микробиологии. – 1966. – № 4. – С. 8–11.

А. А. Згировская,
кандидат биологических наук

Л. Н. Николаевич,
кандидат биологических наук, доцент

Ю. И. Тяпша,
кандидат ветеринарных наук, доцент

О. В. Дубаневич,
старший научный сотрудник

В. И. Герасименко,
ведущий технолог

Е. А. Дик,
ведущий ветеринарный врач

Г. Е. Толяронок,
кандидат ветеринарных наук, доцент

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелецкого,
г. Минск, Республика Беларусь*

ИЗУЧЕНИЕ ЭТИОЛОГИИ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОЛИ В НЕЙ РЕСПИРАТОРНО- СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА

Резюме. При проведении ретроспективного исследования сывороток крови крупного рогатого скота в отношении вирусов инфекционного ринотрахеита (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3), вирусной диареи (ВД) и респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ) установлено, что в 18,4–33,3 % случаев респираторная патология крупного рогатого скота вызвана вирусом РСИ в ассоциации с вирусами ИРТ, ПГ-3 и ВД. Проведен серологический мониторинг в 10 хозяйствах 5 областей Республики Беларусь в отношении вирусов инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи и респираторно-синцитиальной инфекции. Выделен изолят вируса респираторно-синцитиальной инфекции, что подтверждено методом полимеразной цепной реакции.

Ключевые слова: респираторно-синцитиальный вирус, серологический мониторинг, изолят вируса.

Summary. When conducting a retrospective diagnosis of blood sera of cattle in relation to the viruses of infectious rhinotracheitis (IRT), parainfluenza-3 (PI-3), viral diarrhea (VD) and respiratory syncytial infection (RSI), it was found that in 18,4–33,3 % of cases, respiratory pathology in cattle is caused by RSI virus in association with IRT, PI-3 and VD viruses. Serological monitoring was carried out in 10 farms of 5 regions of the Republic of Belarus in relation to viruses of infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3, viral diarrhea and respiratory syncytial infection. An isolate of respiratory syncytial infection virus was isolated, which was confirmed by polymerase chain reaction.

Keywords: respiratory syncytial virus, serological monitoring, virus isolate.

Введение. Респираторные заболевания крупного рогатого скота занимают второе место по распространению после желудочно-кишечной патологии. Эти болезни, как правило, протекают с участием нескольких возбудителей, синергетическое взаимодействие которых приводит к усилению тяжести инфекционного процесса. Одним из этиологических агентов респираторной патологии является респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота, относящийся к семейству *Paramyxoviridae*, роду *Pneumovirus* [1, 2].

Респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота был впервые выявлен в Европе в 1970 г. Респираторно-синцитиальная инфекция широко распространена во всем мире. Независимо от географического положения, уровень инфекционности, как правило, довольно высок, предполагается, что передача вируса – обычное явление в стаде. Крупный рогатый скот является основным резервуаром инфекции, однако могут также заразиться овцы, бизоны [6].

Передача вируса внутри стада обычно происходит воздушно-капельным путем. С другой стороны, прямая передача между стадами часто является следствием введения новых инфицированных животных, в то время как непрямая передача происходит через людей, посещающих хозяйство. Одним из основных факторов риска передачи респираторно-синцитиального вируса является скученность животных. Вспышки РСИ обычно происходят в зимнее время. В регионах с умеренным климатом заболевание чаще всего диагностируется в осенне-зимний период [5].

Тем не менее инфекция может также наблюдаться и летом. Заболеваемость достаточно высока, а иногда это было причиной до 60–80 % клинических случаев респираторных заболеваний среди коров со смертностью до 20 % во время вспышек. В целом частота респираторно-синцитиальной инфекции прочно ассоциирована с плотностью популяции крупного рогатого скота в регионе. Вспышки могут стать эпизоотиями, поражающими животных во всех возрастных группах. Важно отметить, что естественная инфекция поражает как мясной, так и молочный скот. Механизмы, отвечающие за выживание вируса в данной популяции, полностью не изучены. В качестве механизма, который может играть роль в распространении бо-

лезни, было предложено хроническое носительство вируса. Респираторно-синцитиальный (РС) вирус может быть выделен от бессимптомных животных и может персистировать. Одним из возможных вариантов является постоянное наличие инфицированных телят, которые могут начать выделять вирус при определенных условиях. Объяснить возникновение вспышек среди относительно изолированных телят можно тем, что в стаде персистирует латентная инфекция. Тем не менее клинически больные животные, как полагают, являются наиболее вероятными источниками инфекции [3, 4].

Несмотря на относительно высокую степень изученности респираторных заболеваний крупного рогатого скота, в нашей стране данных, касающихся роли респираторно-синцитиального вируса в возникновении респираторных болезней, в том числе в ассоциациях с другими вирусами, недостаточно. Изучение этой инфекции длительное время сдерживалось из-за высокой лабильности вируса и слабой его способности к размножению в культурах клеток, что, в свою очередь, препятствовало разработке диагностических препаратов. Поэтому многие вопросы, касающиеся диагностики, особенностей эпизоотической ситуации, возрастной восприимчивости животных к инфицированию вирусом, остаются открытыми. В связи с этим изучение роли респираторно-синцитиального вируса в респираторной патологии крупного рогатого скота представляется актуальным.

Материалы и методы. Для ретроспективного анализа значимости вируса респираторно-синцитиальной инфекции в респираторной патологии крупного рогатого скота было отобрано 3 хозяйства: ОАО «Борисов Союз Агро» Борисовского района Минской области, ОАО «Мирополье» Борисовского района Минской области и ОАО «Агрофирма имени Суворова» Борисовского района Минской области, на базе которых проводили мониторинг болезней респираторного тракта крупного рогатого скота, имеющих вирусную природу.

В вышеперечисленных хозяйствах отобрали пробы биологического материала (кровь, пробы носовых выделений, трахеальные и бронхиальные экссудаты, кусочки легкого, трахеи и бронхов у вынужденно убитых животных или павших) для проведения серологической и молекулярно-биологической диагностики, вирусологических исследований. Всего отобрано 120 проб.

Реакцию нейтрализации ставили методом разведения испытуемых сывороток с постоянной дозой вируса (100 ТЦД_{50} (тканевая цитотоксическая доза) в 0,1 мл).

Для постановки реакции нейтрализации предварительно титровали вирус в соответствующей культуре клеток. Готовили десятикратные разведения вируса с 10^{-1} до 10^{-8} с использованием питательной среды, соответствующей той или иной культуре клеток. Титром вируса считали наибольшее разведение его, вызывающее цитопатическое действие (ЦПД) в 50 % куль-

тур клеток. Вычисляли титр по методу Рида и Менча или Кербера в модификации Ашмарина и выражали в ТЦД₅₀/мл.

Испытуемые сыворотки прогревали в водяной бане при 56 °С 30 мин, готовили двукратные разведения их от 1 : 2 до 1 : 64 на питательной среде, соединяли в равном объеме с вирусом в дозе 100 ТЦД₅₀ в 0,1 мл. Смесь сыворотки и вируса встряхивали и выдерживали при температуре 37 °С в течение 1 ч для вируса ИРТ и парагриппа, а для ВД и РСВ – в течение 2–3 ч при 4 °С. После этого смесь вируса и сыворотки вносили в 96-луночный планшет, используя по 4 лунки на каждое разведение. Инкубировали планшет при температуре 37 °С. Одновременно ставили контроли: контроль незараженных культур клеток, контроль вируса в рабочей дозе 100 ТЦД₅₀, в дозе 10, 1,0 и 0,1 ТЦД₅₀.

Учет реакции проводили после появления цитопатических изменений в контроле культур клеток, зараженных 100, 10 ТЦД₅₀.

Титром сыворотки считали ее предельное разведение, сдерживающее развитие ЦПД в 50 % зараженных культур клеток.

Для проведения серологических исследований сывороток крови крупного рогатого скота на наличие антител к вирусам, вызывающим респираторную патологию крупного рогатого скота, нами было отобрано 10 хозяйств, благополучных в отношении респираторной патологии крупного рогатого скота и менее благополучных: ОАО «Пресноки» МТФ «Камень» (8 проб), КСУП «Лесное» МТК «Лотвино» Копыльского района (8 проб), КСУП «Путчино» МТК «Юцки» (8 проб), ОАО «Агрокомбинат Дзержинский» МТК «Заболотье» (8 проб), ОАО «Подлужье» Слуцкого мясокомбината (8 проб), ОАО «Литвяны Агро» Узденского района ТФ «Большая Рось» (8 проб), Воложинский район (20 проб), ОАО «Кленовичи» МТК «Бобр 1100» Крупского района (7 проб), СХУП «Шавры-Агро» ТФ «Осовец» Крупского района (8 проб). Всего было отобрано 83 парные сыворотки.

Способ получения сывороток крови и постановка реакции нейтрализации описан выше.

Иммуноферментный анализ проводили согласно инструкции, представленной в тест-системе. Метод основан на взаимодействии иммобилизованного на поверхности лунок вируса со специфическими антителами из исследуемой пробы сыворотки крови и последующем выявлении полученного комплекса «антиген + антитело» конъюгатом (мечеными пероксидазой хрена специфическими антителами к IgG крупного рогатого скота). Связанная пероксидаза вызывает разложение находящейся в хромоген-субстратном растворе перекиси водорода и окисление хромогена. В лунках развивается окраска, интенсивность которой прямо пропорциональна количеству антител в определяемой пробе. Интенсивность окраски определяли на спектрофотометре при длине волны 450 нм.

Для проведения мониторинга циркуляции вирусов, вызывающих респираторную патологию крупного рогатого скота, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и определения роли в ней респираторно-синцитиальной инфекции от больных животных отбирали носовые выделения, смывы и соскобы из носовой полости, от погибших – кусочки слизистой носа, трахеи, бронхов, легких.

Пробы носовых выделений, соскобы из носовой перегородки вносили в центрифужные пробирки с 2–3 мл стерильного физиологического раствора или раствора Хенкса, проводили равномерное распределение содержимого встряхиванием, после чего центрифугировали при 2 тыс. об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость использовали для проверки методом ПЦР наличия антигенов вирусов инфекционного ринотрахеита, респираторно-синцитиальной инфекции, парагриппа-3, вирусной диареи согласно инструкции, прилагаемой к тест-системе.

При отборе проб органов от павших или вынужденно убитых животных из них готовили 10–20%-ю суспензию на растворе Хенкса, содержащем антибиотики. Проводили центрифугирование при 4–5 тыс. об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость использовали для исследования в ПЦР с целью выявления наличия вирусов, вызывающих респираторную патологию крупного рогатого скота.

Биологический материал отбирали в 5 областях: Минской, Витебской, Гомельской, Гродненской и Брестской. Было исследовано 126 проб биологического материала от крупного рогатого скота с признаками пневмоэнтеритов из 22 хозяйств Республики Беларусь.

С целью определения спектра чувствительных клеточных систем для выделения и накопления вируса респираторно-синцитиальной инфекции проводили исследования как с гомологичными, так и с гетерологичными культурами клеток. В работе использовали следующие клеточные системы: МА-104 (почка эмбриона макаки-резуса), ПТ (почка теленка), Marc-145 (почка эмбриона макаки-резуса), Taigus-1 (почка теленка), Vero (почка африканской зеленой мартышки), MDBK (почка теленка), ПО (почка овцы), ЯДК-04 (гонады домашней козы). Для культивирования клеток и вируса использовали питательные среды 199, Игла МЕМ, ДМЕМ, ФГМС/ДМЕМ, обогащенные сыворотками крови крупного рогатого скота и эмбрионов коров (фетальной). Отмывали монослойные культуры клеток раствором Хенкса. Инфекционную активность вируса РСИ определяли титрованием в чувствительных культурах клеток по ЦПД. Расчет инфекционного титра вируса проводили по методу Рида и Менча или по методу Кербера в модификации Ашмарина и выражали в ТЦД₅₀/мл. Также инфекционную активность вируса РСИ рассчитывали методом бляшек и методом окрашенных фокусов, титр выражали в БОЕ/мл и ФОЕ/мл.

Заражение культур клеток проводили по стандартной методике. На сформированный монослой, в суспензию клеток и на монослой, сформированный на 30–40 %. Перед заражением удаляли ростовую среду, монослой клеток промывали трижды раствором Хенкса. Отмытую культуру клеток от продуктов жизнедеятельности и сыворотки заражали вирусом с множественностью инфицирования 1,0–2,0 ТЦД₅₀/клетку. После контакта вируса и клеток в течение 60–90 мин при температуре 37 °С добавляли в матрасы поддерживающую питательную среду, соответствующую каждой культуре клеток, обогащенную 2 % сыворотки. За культурой клеток вели ежедневное наблюдение в течение 24–120 ч. Обычно цитопатическое действие вируса респираторно-синцитиальной инфекции проявляется на 5-е сутки после заражения. Развитие ЦПД ускоряется заменой питательной среды через каждые двое суток. Цитопатические изменения монослоя клеток проявляются в виде очагов зернистых сморщенных клеток, синцитиев или гигантских клеток.

В случае отсутствия проявления ЦПД в первом пассаже проводили 3–5 «слепых» пассажей. Изолят считается выделенным, если он вызывает стабильное однотипное ЦПД не менее чем в трех последовательных пассажах. В этом случае возможна его последующая идентификация.

Для изоляции вируса использовали приготовленную суспензию культуры клеток Vero, MDBK, ПО-2, Ма-104. Суспензия содержала 300 тыс. клеток в 1 мл питательной среды Игла MEM с добавлением антибиотиков. Подготовленную суспензию клеток разливали в 24-луночные планшеты по 200 мкл на лунку, культивировали в условиях CO₂-инкубатора в атмосфере с 5 % CO₂ в течение 48 ч, после чего удаляли питательную среду и вносили по 2 мкл диметилсульфоксида (DMSO) и 20 мкл каждого из подготовленных гомогенатов проб биоматериала от телят. На каждую пробу использовали по 3 лунки с монослоем клеток. Часть лунок с монослоем клеток оставляли в качестве контролей. Планшеты в течение 60 мин оставляли при температуре плюс 37 °С для адсорбции вируса. По истечении этого времени в лунки с монослоем клеток добавляли по 0,4 мл среды Игла MEM и инкубировали при температуре 37 °С в атмосфере с 5 % CO₂. Проводили 8 последовательных пассажей в культурах клеток Vero, MDBK, ПО-2, Ма-104 с адсорбцией зараженного материала в культуре клеток, предварительно обработанной диметилсульфоксидом (DMSO). Диметилсульфоксид использовали для обработки клеточной суспензии, так как он усиливает проницаемость мембран, но при этом не повреждает их и клетки. Было проведено 8 слепых пассажей. На 7-м пассаже и более четко на 8-м было выявлено цитопатическое действие вируса, выражающееся в образовании гигантских клеток.

Идентификацию выделенного вируса проводили методом ПЦР, а в дальнейшем в реакции нейтрализации со специфической иммунной сывороткой.

Для подсчета титра вируса респираторно-синцитиальной инфекции в фокусобразующих единицах готовили разведения вируса до 10^4 . Каждым разведением заражали по 4 флакона на «сухой» монослой. Время контакта вируса и клетки составляло 45 мин, после чего во флаконы вносили поддерживающую среду. Через 24 ч проводили смену поддерживающей среды. Учет ЦПД вируса проводили через 5 суток инкубации.

По истечении срока инкубирования окрашивали монослой инфицированных клеток амидовым черным и подсчитывали характерные цитопатические изменения клеток в виде фокусов. Титр вирусов определяли по формуле

$$T = \frac{A \cdot 10}{P},$$

где T – титр вируса в ФОЕ/см³; A – среднее количество фокусов во флаконе; 10 – коэффициент перерасчета на 1,0 см³; P – разведение вируса.

Результаты исследований. При подборе хозяйств для ретроспективного изучения респираторной патологии крупного рогатого скота мы опирались на данные, полученные ранее, при выполнении предыдущих исследований.

В сыворотках крови определяли титры антител к инфекционному ринотрахеиту, парагриппу-3, вирусной диарее и респираторно-синцитиальному вирусу в реакции нейтрализации.

Ретроспективный диагноз ставили при 4-кратном и более приросте антител в парных сыворотках переболевших животных.

Результаты наличия антител в сыворотках крови к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3 и РСИ представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты ретроспективных исследований сывороток крови крупного рогатого скота в отношении вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД и РСИ

Хозяйство	Количество сывороток, абс. число	Количество положительных сывороток к вирусам, абс. число, %			
		ИРТ	ВД	ПГ-3	РСИ
Борисов Союз Агро	43	12 (27,9 %)	22 (51,2 %)	–	9 (20,9%)
Мирополье	39	10 (25,6 %)	5 (12,8 %)	11 (28,2 %)	13 (33,3 %)
Агрофирма имени Суворова	38	8 (21,1 %)	–	23 (60,5 %)	7 (18,4 %)

Как видно из табл. 1, в сыворотках крови крупного рогатого скота выявлены антитела к вирусу РСИ во всех хозяйствах. Антитела к РСИ диагностированы у 18,4 % животных в хозяйстве «Агрофирма имени Суворова», 20,9 % – «Борисов Союз Агро» и 33,3 % – «Мирополье». Из представленных данных ретроспективного анализа следует, что РСИ протекает в ассоциации с другими вирусными инфекциями, а именно инфекционным ринотрахеитом, вирусной диареей и парагриппом-3.

Серологический метод диагностики инфекционных заболеваний – это обнаружение антител к определенному антигену в сыворотках крови животных и выявление их титра. Для серологических исследований отбирались парные сыворотки крови в выбранных хозяйствах, взятые от одних и тех же животных в начале заболевания и через 14–20 дней. Сыворотки крови исследовали на выявление антител к вирусам инфекционного ринотрахеита, респираторно-синцитиальной инфекции, вирусной диареи и парагриппа-3 в реакции нейтрализации и методом иммуноферментного анализа.

Существует два способа подтверждения диагноза заболевания серологическим методом: 1 – определения наличия антител в диагностическом титре; 2 – определения природы антител. По природе антитела могут быть: инфекционные, прививочные, анамнестические. Природу антител выявляют при исследовании парных сывороток. Если титр инфекционных антител в парных сыворотках возрастает в 4 раза и более, то подтверждается клинический диагноз заболевания. Титр анамнестических и прививочных антител в парных сыворотках не меняется или меняется незначительно. Для обнаружения антител необходимы известные антигены.

Результаты исследования парных сывороток крови крупного рогатого скота в реакции нейтрализации представлены в табл. 2.

Таблица 2. Титры антител в сыворотках крови крупного рогатого скота к вирусам ИРТ, ПГ-3, ВД и РСИ

Хозяйство	Количество сывороток, абс. число	Титр антител в реакции нейтрализации к вирусам, $\log_2$			
		ИРТ	ВД	РСИ	ПГ-3
МТФ «Камень»	8	2/2	5/8	5/7	4/4
МТК «Лотвино»	8	4/6	6/7	6/6	5/6
МТК «Юцки»	8	2/3	5/8	4/7	4/4
МТК «Заболотье»	8	3/4	4/4	5/5	2/2
ОАО «Подлужье» Слуцкий мясокомбинат	8	1/1	5/5	6/7	4/6
ТФ «Большая Рось»	8	4/6	6/9	2/4	4/4
Воложинский район	20	4/5	6/8	3/5	2/4
МТК «Бобр 1100»	7	4/4	5/8	5/5	4/4
ТФ «Осовец»	8	3/7	4/6	4/6	2/2

Примечание. Через косую черту указаны средние значения титра антител в парных сыворотках.

Как видно из результатов исследований сывороток крови в реакции нейтрализации, представленных в табл. 2, во всех обследованных хозяйствах выявлены антитела к вирусам ИРТ, ПГ-3, ВД и РСИ. Однако ни у одного животного не обнаружены инфекционные антитела (4-кратное увеличение титра

антител), следовательно, на момент обследования заболевшие животные отсутствовали. Нами выявлены только либо прививочные антитела, либо анамнестические, о чем говорит незначительное колебание титра антител в пределах 2–3 log₂.

Однако следует отметить, что во всех хозяйствах можно с уверенностью говорить о циркуляции вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД и РСИ.

При проверке сывороток крови в реакции иммуноферментного анализа установлена аналогичная картина. Во всех пробах выявлены антитела к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3 и РСИ. В целях экономии набора методом *иммуноферментного анализа* определяли антитела к вирусам в объединенной пробе сывороток крови в каждом хозяйстве. Результаты определения уровня антител к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3 и РСИ представлены в табл. 3.

Таблица 3. Определение в сыворотках крови телят уровня антител к вирусам ИРТ, ВД, РСИ и ПГ-3

Хозяйство	Количество сывороток, объединенных в одну, абс. число	Значения s/p при 450 нм к вирусам			
		ИРТ	ВД	РСИ	ПГ-3
МТФ «Камень»	8	105,5 ± 0,06	120,9 ± 0,01	116,3 ± 0,05	105,6 ± 0,06
МТК «Лотвино»	8	84,1 ± 0,09	128,5 ± 0,04	134,3 ± 0,02	119,2 ± 0,05
МТК «Юцки»	8	95,7 ± 0,06	109,7 ± 0,04	54,1 ± 0,09	72,1 ± 0,04
МТК «Заболотье»	8	151,6 ± 0,01	156,5 ± 0,07	177,9 ± 0,07	100,2 ± 0,06
ОАО «Подлужье» Слуцкий мясокомбинат	8	143,4 ± 0,04	151,4 ± 0,03	50,2 ± 0,08	162,2 ± 0,08
ТФ «Большая Рось»	8	95,2 ± 0,03	159,9 ± 0,06	134,9 ± 0,06	110,1 ± 0,07
Воложинский район	20	81,2 ± 0,02	126,6 ± 0,04	112,6 ± 0,05	95,2 ± 0,08
МТК «Бобр 1100»	7	146,9 ± 0,07	149,4 ± 0,05	126,7 ± 0,04	116,3 ± 0,09
ТФ «Осовец»	8	32,9 ± 0,09	160,4 ± 0,06	151,4 ± 0,08	150,6 ± 0,06

П р и м е ч а н и е. Значение оптической плотности (ОП) отрицательного контроля набора составило 0,136 ± 0,02, значение ОП положительного контроля набора составило 0,620 ± 0,03.

Результат считали положительным, если значение s/p (показатель значения оптической плотности опытных образцов к позитивному контролю) составляло ≥50 %. Как видно из табл. 2, во всех обследованных хозяйствах выявлены антитела к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3 и РСИ, кроме ТФ «Осовец», в которой в сыворотках крови не обнаружили антител к инфекционному ринотрахеиту. Значение s/p составляло более 50 %, кроме ТФ «Осовец», там значение s/p было меньше 50 %.

Полимеразная цепная реакция является наиболее чувствительным методом выявления антигенов вирусов в биологическом материале, отобранном от больных животных.

В табл. 4 представлены результаты проверки патологического материала методом ПЦР на наличие вирусов, вызывающих респираторную патологию у животных.

Таблица 4. Результаты выявления положительных проб биологического материала в реакции ПЦР на наличие антигенов вирусов ВД, РСИ, ПГ-З и ИРТ

Область	Количество обследованных хозяйств	Количество положительных проб			
		ВД	РСИ	ПГ	ИРТ
Минская	21	21	0	12	3
Витебская	51	11	16	38	20
Гомельская	14	14	6	1	4
Брестская	39	29	22	14	6
Гродненская	1	1	0	0	0

Согласно данным из табл. 4, в большинстве обследованных хозяйств респираторные заболевания вызваны несколькими вирусами. Так, в Витебской, Гомельской, Минской и Брестской областях респираторная патология КРС вызвана вирусами ВД, РСИ, ПГ и ИРТ. В Гродненской области нами выявлена патология респираторного тракта в одном хозяйстве, и вызвана она вирусной диареей. Следует отметить, что это связано скорее всего с ограниченным количеством проб.

В табл. 5 представлены данные по хозяйствам, в которых выявлен антиген вируса РСИ в областях Республики Беларусь.

Таблица 5. Данные по хозяйствам, в которых выявлен антиген вируса РСИ

Количество неблагополучных по РСИ хозяйств по областям					
Минская	Витебская	Могилевская	Гомельская	Брестская	Гродненская
0	4	Не исследовали	3	3	0

Как видно из табл. 5, по нашим данным, в обследованных хозяйствах Минской и Гродненской областей наличие респираторно-синцитиальной инфекции не выявлено. Из 22 обследованных хозяйств РСИ встречается в 10 хозяйствах, что составляет 45,5 %.

В табл. 6 представлены данные по количеству положительных проб в отношении РСИ в областях Республики Беларусь.

По данным табл. 6, процент положительных проб в Витебской, Брестской и Гомельской областях в отношении РСИ составлял 31,4–56,4 %. Из 126 исследованных проб 44 пробы оказались положительными.

Из положительных в ПЦР проб биологического материала нами проведены исследования по выделению вируса РСИ.

Таблица 6. Количество положительных проб в отношении РСИ по областям

Область	Количество		Процент положительных проб
	исследованных проб	положительных проб в отношении РСИ	
Минская	21	0	0
Гродненская	1	0	0
Витебская	51	16	31,4
Брестская	39	22	56,4
Гомельская	14	6	42,9
<i>Всего</i>	126	44	34,9

Успех выделения вируса из патологического материала в большой степени зависит от правильности сбора и хранения подлежащих исследованию проб. Выделение вируса РСИ затруднено ввиду его чрезвычайной лабильности. Выделить его от больных животных возможно только на ранней стадии инфекции, и вероятность выделения снижается с появлением признаков заболевания. У телят вирус выделяли из носоглотки на 2–11-й день после заражения. Важно отметить, что РСИ, в основном, выявляют в выделениях и тканях дыхательных путей. Лучшие результаты получают, проводя заражение культур клеток как можно скорее после взятия материала и до исследования, избегая его замораживания. Однако выделение вполне возможно и из материала, хранившегося 3–5 ч при температуре 4 °С или быстрозамороженного и помещенного для хранения при –70 °С.

В связи с тем, что вирус респираторно-синцитиальной инфекции обладает высокой лабильностью и очень слабой способностью к размножению в культурах клеток, одним из важных этапов в работе с ним является изыскание и подбор наиболее чувствительных линий клеток из имеющихся в наличии в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского».

В дальнейшем проводили подбор наиболее чувствительных линий клеток для накопления и титрования выделенного вируса. Выделенным вирусом заражали перевиваемые клетки МА-104, ПТ, Marc-145, Taurus-1, Vero, MDBK, ПО-2, ЯДК-04 и определяли инфекционную активность титрованием по ЦПД. Однако, следует отметить, что даже пассирование вируса РСИ в чувствительных культурах клеток не в каждом пассаже сопровождается видимым ЦПД. Цитопатическое действие РС-вируса в культуре клеток носит неперманентный характер, что и осложняет его культивирование. Результаты титрования РС-вируса представлены в табл. 7.

Как видно из табл. 7, наиболее чувствительными линиями клеток для накопления РС-вируса являются гетерологичные линии клеток Vero и ПО-2 и гомологичные – MDBK. Титр вируса в них составлял 1,25–3,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Таблица 7. Результаты титрования РС-вируса на перевиваемых линиях культур клеток

Культура клеток	Время наступления ЦПД, ч	Инфекционная активность, lg TCID ₅₀ /мл
MA-104	—	0
Vero	72	3,0
Taurus-1	—	0
ПТ	—	0
Marc-145	—	0
MDBK	120	1,5
ПО-2	96	1,25
ЯДК-04	—	0

Кроме того, определение инфекционной активности РС-вируса проводили по единичному эффекту, то есть по фокусообразующим единицам (ФОЕ).

Результаты определения инфекционной активности РС-вируса по фокусообразующим единицам представлены в табл. 8.

Таблица 8. Изучение чувствительности перевиваемых линий клеток к РС-вирусу (определение инфекционной активности вируса в фокусообразующих единицах)

Культура клеток	Время наступления ЦПД, ч	Концентрация клеток, млн/см ³	Биологическая активность, ФОЕ/см
MA-104	120	6,5	0
Vero	72	5,9	2,5·10 ⁴
Taurus-1	96	6,0	1,4·10 ²
ПТ	96	7,5	1,0·10 ²
Marc-145	120	7,5	0
MDBK	120	6,5	2,0·10 ³
ПО-2	96	7,0	2,0·10 ³
ЯДК-04	48	7,0	0

Таким образом, установлено, что метод титрования по ФОЕ чувствительнее метода титрования по ЦПД. Так, РС-вирус был выявлен в культуре клеток Taurus-1 и ПТ, в то время как при титровании по ЦПД этого не произошло. Титр вируса составил в этих клетках 1,0–1,4·10² ФОЕ/см.

Закключение. Проведена ретроспективная диагностики сывороток крови крупного рогатого скота в отношении вирусов инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи и респираторно-синцитиальной инфекции. Исследовано 120 сывороток крови. Установлено, что в 18,4–33,3 % случаях респираторная патология крупного рогатого скота вызвана вирусом РСИ в ассоциации с вирусами ИРТ, ПР-3 и ВД.

Проведен серологический мониторинг в 10 хозяйствах Республики Беларусь в отношении вирусов инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи и респираторно-синцитиальной инфекции. Исследовано 83 парных сыворотки крупного рогатого скота. Установлено, что в момент исследования во всех хозяйствах отсутствовали животные в стадии клинического заболевания, так как не выявлено 4-кратного нарастания титра антител. Во всех обследованных хозяйствах отмечена циркуляция вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД и РСИ.

Проведено обследование 5 областей (Минской, Гомельской, Гродненской, Витебской и Брестской) в отношении РСИ. Исследовано 126 проб биологического материала, из которых 44 пробы оказались положительными, что составляет 34,9 %.

Выделен изолят вируса респираторно-синцитиальной инфекции, что подтверждено методом полимеразной цепной реакции. Наиболее чувствительными линиями клеток являются гетероличные клетки Vero и ПО-2, гомологичные клетки MDBK. Титр респираторно-синцитиального вируса составлял 1,25–3,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Литература

1. Глов, А. Г. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота / А. Г. Глов, Т. И. Глотова, О. Г. Петрова // Ветеринария. – 2002. – № 3. – С. 17–21.
2. Глов, А. Г. Особенности диагностики респираторных болезней крупного рогатого скота, вызываемых РНК-содержащими вирусами / А. Г. Глов, Т. И. Глотова, И. Я. Строганова // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири : материалы междунар. конф., посвящ. 70-летию со дня основания ИЭВ СидВ. – п. Краснообск, 2010. – С. 33–39.
3. Глотова, Т. И. Выделение и типирование респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота при помощи ОТ-ПЦР / Т. И. Глотова, О. В. Кунгурцева, А. Г. Глотова // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2010. – С. 59–63.
4. Макарян, Э. А. Экспресс-диагностика респираторно-синцитиальной инфекции у крупного рогатого скота / Э. А. Макарян, И. Я. Строганова, И. В. Красильников // Интенсификация сельскохозяйственного производства в условиях радикальной экономической реформы : тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. – Сумы, 1989. – С. 173–174.
5. Стратегия борьбы с вирусной диареей – болезнью слизистых крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Российской Федерации / М. И. Гулюкини [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2013. – № 6. – С. 13–18.
6. Строганова, И. Я. Методы обнаружения и идентификации респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота / И. Я. Строганова, К. В. Войтова // Животноводство и ветеринария. – 2011. – № 3. – С. 128–133.

О. Н. Новикова,

кандидат ветеринарных наук, доцент

М. А. Ананчиков,

кандидат ветеринарных наук, доцент

М. М. Мистейко,

кандидат ветеринарных наук, доцент

И. В. Зубовская,

кандидат ветеринарных наук, доцент

А. А. Бережинская,

микробиолог

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелецкого,
г. Минск, Республика Беларусь*

КЛОСТРИДИОЗЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. В результате мониторинга эпизоотической ситуации по клостридиозам крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь были выделены следующие виды: *C. perfringens* тип А, *C. novyi*, *C. clostridioforme*, *C. butyricum*, *C. bifermentans*, *C. tertium*, *C. chauvoei*, *C. sordellii*. Установлено, что *C. perfringens* тип А (12,9 %) и *C. novyi* (10,6 %) имеют наиболее важное клиническое значение.

Ключевые слова: клостридиозы, крупный рогатый скот, эпизоотические изоляты клостридий, биохимическая идентификация, ПЦР (полимеразная цепная реакция).

Summary. As a result of monitoring the epizootic situation of cattle clostridium in livestock farms of the Republic of Belarus, the following species were identified: *C. perfringens* type A, *C. novyi*, *C. clostridioforme*, *C. butyricum*, *C. bifermentans*, *C. tertium*, *C. chauvoei*, *C. sordellii*. It was found that *C. perfringens* type A (12,9 %) and *C. novyi* (10,6 %) have the most important clinical significance.

Keywords: Clostridiosis, cattle, Clostridium epizooticum isolates, biochemical identification, PCR.

Введение. Молочное скотоводство в Республике Беларусь в XXI в. претерпело ряд существенных изменений, касающихся в первую очередь разведения новых высокопродуктивных пород и породных групп скота, технологии содержания и выращивания животных.

Несоблюдение зоогигиенических параметров условий содержания, неполноценное, некачественное и несбалансированное кормление высокопродуктивного крупного рогатого скота способствует нарушению обмена веществ, возникновению патологии органов желудочно-кишечного тракта и опорно-двигательного аппарата, что в дальнейшем осложняется развитием аэробных и анаэробных инфекций, из которых существенную роль играют клостридиальные инфекции [1, 2].

Клостридиозы – это группа заболеваний, вызываемых грамположительными анаэробными спорообразующими бактериями рода *Clostridium*. Наиболее подвержены заболеванию клостридиозами высокопродуктивные коровы и нетели после отела, а также телята до шестимесячного возраста. Заболевание на начальном этапе имеет бессимптомное течение, прогрессирует в течение нескольких часов и зачастую заканчивается летальным исходом.

Клостридии имеют повышенную устойчивость к различным неблагоприятным факторам и широко распространены в окружающей среде. Условно-патогенные и патогенные клостридии постоянно циркулируют в почве, воде и желудочно-кишечном тракте животных и человека. В настоящее время известно более 200 видов клостридий [3].

Вирулентные свойства клостридий проявляются в способности продуцировать высокоактивные токсины и ферменты, которые при воздействии на чувствительные ткани и органы макроорганизма нарушают их нормальное функционирование и вызывают развитие специфических, опасных для жизни различных патологических состояний [4].

Клиническая картина течения клостридиозов зависит от вида и токсигенных свойств возбудителя. Болезни, вызываемые токсигенными клостридиями, условно подразделяют на три основных типа: нейротоксические – ботулизм (*C. botulinum*), столбняк (*C. tetani*), гистологические – клостридиозный миозит, газовая гангрена, злокачественный отек, некротический гепатит, метриты, маститы и др. (*C. novyi*, *C. sordellii*, *C. perfringens* типов А, В, С, *C. septicum*, *C. chauvoei* и др.), кишечные – диареи и клостридийные абомазиты, обусловленные *C. perfringens* типов А, В, С, D, Е и *C. difficile* [5].

Так как *C. perfringens* отличается высокой энергией размножения и имеет некоторую толерантность к кислороду, этот вид клостридий наиболее широко распространен в природе [6, 7].

Цель работы – изучение видового состава клостридий, циркулирующих в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь.

Материалы и методы. В настоящее время идентификацию клостридий проводят микробиологическими, молекулярно-генетическим и серологическими методами. Микробиологические методы основаны на выделении чистой культуры и установлении вида клостридий с помощью определения биохимических свойств возбудителя и (или) масс-спектрометрического анализа [8].

Определение токсинотипа *C. perfringens* проводят с помощью специфических антитоксических диагностических сывороток в реакции нейтрализации на белых мышах. Молекулярно-генетический метод (ПЦР) позволяет определить серотип клостридий в биоматериале и (или) выделенной чистой культуре.

Для выделения изолятов клостридий из патологического материала и биоматериала от телят и коров использовали бактериологические методы. Отбирали кусочки паренхиматозных органов, сердца, участок тонкого отдела кишечника с содержимым, от живых животных – фекалии, молоко, эндометритную слизь, раневой экссудат. Для выделения изолятов клостридий использовали жидкие питательные среды (сердечно-мозговой бульон (СМБ), среду Китт-Тароцци,) и твердые питательные среды (сердечно-мозговой агар (СМА) и 5%-й кровяной агар). Для инаktivации вегетативной формы сопутствующих микроорганизмов пробирки с первичными посевами на среде Китт-Тароцци помещали в водяную баню на 1,5 ч при температуре 90,5 °С. Для восстановления вегетативной формы клостридий делали пересев в пробирки со специальной средой для накопления клостридий (Condalab, Испания). Для создания анаэробных условий питательные среды с посевами помещали в анаэроостат с использованием газогенераторных пакетов.

Для определения сопутствующей микрофлоры делали посевы на жидкие и твердые питательные среды и культивировали пробирки и чашки с посевами в аэробных и анаэробных условиях.

Морфологические свойства микроорганизмов изучали в препаратах-мазках, окрашенных по Граму. Родовую и видовую принадлежность выделенных микроорганизмов определяли по результатам микроскопического, бактериологического и биохимического исследований с помощью биохимического анализатора «Vitek 2» (США).

Постановку биопробы проводили на морских свинках массой 450–500 г. Морским свинкам внутримышечно вводили 0,5 мл суточной культуры клостридий со среды Китт-Тароцци.

Исследование основных токсинотипов *C. perfringens* проводили в ПЦР с применением набора реагентов для ПЦР и с помощью коммерческих антитоксических сывороток *C. perfringens* типов А, С и D производства ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК».

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью критерия Стьюдента для независимых выборок.

Результаты исследований. Изучение случаев клостридиозов крупного рогатого скота проводили в животноводческих хозяйствах Минской, Гомельской, Могилевской, Витебской и Брестской областей Республики Беларусь.

Всего на наличие возбудителей клостридиозов крупного рогатого скота бактериологическими методами было исследовано 85 образцов биологического материала.

Эпизоотические изоляты клостридий имели характерные культурально-морфологические свойства. При росте на жидких питательных средах наблюдали помутнение и газообразование различной степени выраженности. При посеве культур на кровяной агар у большинства изучаемых изолятов клостридий гемолиз был слабо выражен или отсутствовал. У некоторых изолятов клостридий при росте на кровяном агаре наблюдали R-колонии (плоские, неправильной формы, бугристые), окруженные зоной β -гемолиза. При окраске бактерий по Граму в мазках-препаратах наблюдали грамположительные палочки с закругленными концами и субтерминально или терминально расположенными спорами. Из чистой культуры клостридий готовили бактериальную суспензию с концентрацией 2,7–3,3 единицы по McFarland. Идентификацию по ферментативным свойствам проводили с помощью биохимического анализатора с использованием ANC карт. Для каждого изолята клостридий установлен вид с вероятностью 95–99 %.

При изучении серотипа выделенных изолятов *C. perfringens* с помощью полимеразной цепной реакции для выявления генов, кодирующих токсины, все выделенные изоляты № 1–11 отнесены к серотипу А.

Также токсинотип выделенных изолятов *C. perfringens* изучали с помощью специфических антитоксических сывороток в реакции нейтрализации на белых мышах. Полученные результаты подтвердили принадлежность всех 11 изолятов *C. perfringens* к токсинотипу А. Наиболее часто *C. perfringens* тип А изолировали от трупов телят, павших в возрасте 1–3 месяца. При патологоанатомических исследованиях отмечали активное газообразование в желудочно-кишечном тракте. Как правило, основные патологоанатомические изменения обнаруживали в сычуге и кишечнике: наблюдали воспаление слизистой сычуга (абомазит), в отдельных случаях гемолитическое воспаление тонкого кишечника (рис. 1, 2).

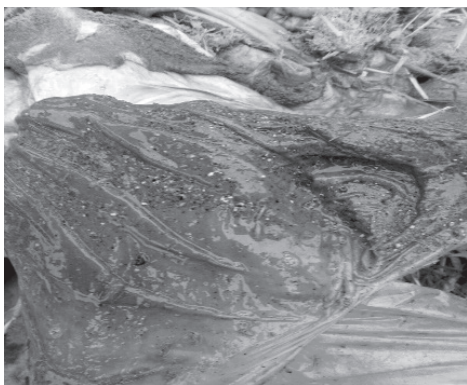


Рис. 1. Абомазит у теленка месячного возраста



Рис. 2. Геморрагическое воспаление тонкого отдела кишечника теленка в возрасте трех месяцев

В результате проведения бактериологических исследований и определения биохимических свойств микроорганизмов идентифицировали до вида 37 изолятов клостридий, из них 11 изолятов *C. perfringens* тип А (12,9 %), 9 изолятов *C. novyi* (10,6 %), 5 изолятов *C. clostridioforme* (5,6 %), 5 изолятов *C. butyricum* (5,6 %), 3 изолята *C. bifermentans* (3,5 %), 2 изолята *C. tertium* (2,3 %), 1 изолят *C. chauvoei* (1,2 %), 1 изолят *C. sordellii* (1,2 %).

При постановке биопробы на морских свинках определили вирулентные свойства выделенных изолятов клостридий. По результатам постановки биопробы большинство изолятов не обладали вирулентными свойствами, и после переболевания морских свинок в течение нескольких дней наступало их выздоровление. Однако, как показали результаты наших исследований, клостридии выделяются в ассоциации с другими условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. При проведении бактериологической экспертизы из биологического и патологического материала наряду с клостридиями выделяли: *E. coli* A20, *E. coli* K99, *Streptococcus spp.*, *Staphilococcus spp.*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella typhimurium*, *Fusobacterim nucleatum*. Ассоциативное течение клостридиозов усиливает степень поражения тканей и органов животных.

Закключение. В результате мониторинга эпизоотической ситуации по клостридиозам крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь были выделены следующие виды: *C. perfringens* тип А, *C. novyi*, *C. clostridioforme*, *C. butyricum*, *C. bifermentans*, *C. tertium*, *C. chauvoei*, *C. sordellii*. Установлено, что *C. perfringens* тип А (12,9 %) и *C. novyi* (10,6 %) имеют наиболее важное клиническое значение.

Клостридиозы у крупного рогатого скота протекают в ассоциации с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами (*E. coli* A20, *E. coli* K99, *Streptococcus spp.*, *Staphilococcus spp.*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella typhimurium*, *Fusobacterim nucleatum*). Ассоциативное течение клостридиозов усиливает степень поражения тканей и органов животных.

Литература

1. Глотова, Т. И. Возбудители и возрастная восприимчивость крупного рогатого скота к клостридиозам / Т. И. Глотова, Т. Е. Терентьева, А. Г. Глов / Сибирский вестник с.-х. науки. – 2017. – Т. 47. – № 1. – С. 90–96.
2. Капустин, А. В. Видовой состав клостридий крупного рогатого скота / А. В. Капустин, А. В. Моторыгин, Н. К. Букова // Вестник ветеринарии. – 2013. – № 1 (64). – С. 71–73.
3. Wiegell, J. Family I. Clostridiaceae : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / J. Wiegell. – New York : Springer Science, 2009. – Vol. 3. – P. 736.
4. Popoff, M. R. Clostridial toxins / M. R. Popoff, Ph. Bouvet // Future microbiology. – 2009. – Vol. 8. – P. 1021–1064.

5. *Clostridial Diseases of Animals* / R. O. S. Silva [et al.] // John Wiley & Sons, Ltd. ; Hoboken, NJ, USA. Gangrene Gas (Malignant Edema). – 2016. – P. 243–254.

6. Андросик, Н. Н. Этиологическая роль энтеротоксигенных штаммов *Clostridium perfringens* типа А в заболевании телят энтеротоксемией / Н. Н. Андросик, К. В. Москалёв // Известия Академии аграрных наук Республики Беларусь. – 1999. – № 2. – С. 73–76.

7. Клостридиальные инфекции у телят / М. А. Ананчиков [и др.] // Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса : материалы междунар. науч.-практ. конф., посв. 100-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского». – Минск : Беларуская навука. – 2022. – С. 119–121.

8. Обнаружение и идентификация лабораторными методами бактериальных патогенов рода *Clostridium*, выявленных у крупного рогатого скота на территории Уральского региона / Н. А. Безбородова [и др.] // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2022. – № 1. – С. 83–92.

УДК 619:576.895.1:636.22/.28.053.2

Н. Ю. Щемелёва,

кандидат ветеринарных наук, доцент

Л. В. Леонтьева,

соискатель

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. В статье представлены литературный обзор инвазий, регистрирующихся на территории Республики Беларусь, а также собственные исследования, показывающие, что преобладающими гельминтозами молодняка в хозяйствах Минской и Брестской областей являются стронгилятозы желудочно-кишечного тракта, они регистрируются как моноинвазии, так и в форме ассоциаций с стронгилоидозом и трихоцефалезом.

Ключевые слова: гельминтозы, молодняк крупного рогатого скота, стронгилятозы, стронгилоидоз, трихоцефалез.

Summary. The article presents a literary review of invasions registered on the territory of the Republic of Belarus, as well as our own studies showing that the predominant helminth infections of young animals in the farms of the Minsk and Brest regions are strongylatoses of the gastrointestinal tract, they are recorded as monoinvasions, as well as in the form of associations with strongyloidiasis and trichuriasis.

Keywords: helminth infections, young cattle, strongylatoses, strongyloidiasis, trichuriasis.

Введение. На сегодня в Республике Беларусь численность поголовья крупного рогатого скота составляет 4,1 млн голов, и для дальнейшего успешного

развития отрасли необходимо добиться увеличения не только поголовья, но и стойкого ветеринарного благополучия. Одним из аспектов этой многогранной задачи является усиленное проведение в жизнь мероприятий по контролю паразитарных болезней у данного вида животных. Благоприятные природно-климатические условия Республики Беларусь образуют оптимальную среду для развития возбудителей инвазионных болезней у многих видов животных.

Анализ литературных источников по распространению паразитарных болезней крупного рогатого скота в последние годы показал значительное инвазирование телят и молодняка. Причем среди паразитарных болезней данной возрастной группы животных следует особо отметить протозозы (эймериозы и криптоспориозы). Так, зараженность телят эймериями в среднем по республике составляет 44,97 %, в том числе значительное инвазирование отмечается в Гомельской (50,64 %), Минской и Могилевской областях (48,84 и 35,42 %). В отдельных хозяйствах эти показатели достигают 85,0 % [2, 5].

За последние годы участились случаи падежа телят в результате паразитирования криптоспоридий, и на сегодняшний момент криптоспориоз является серьезной проблемой для хозяйств Беларуси. Инвазированность телят по республике составляет 35,5–48 %, смертность же телят при данной инвазии достигает 40,0 % [3, 9].

Данные паразитарные болезни у молодых животных протекают в более тяжелой форме, чем у взрослых животных. Этому способствует ряд факторов: недоразвитость иммунной системы молодняка (первичный иммунодефицит), пищевые токсикозы, недостаточное и несбалансированное по различным компонентам кормление. На этом фоне условно-патогенная микрофлора активизируется, животные становятся более восприимчивыми к вирусным и бактериальным болезням, что нередко приводит к длительному течению болезни, неблагополучию хозяйств и значительному отходу молодняка [1, 8].

Ряд исследователей указывают на значительное распространение гельминтозов желудочно-кишечного тракта (стронгилятозы – 62,61 %, стронгилоидоз – 24,72 %, трихоцефалез – 12,27 % [4, 6, 7]).

Ущерб от гельминтозов молодняка крупного рогатого скота, по данным отечественных и российских авторов, складывается из снижения привесов на 12–15 %, уменьшения убойного выхода на 21,3 %, соотношения мяса и костной ткани на 6,7 %, ухудшения качества мясной продукции, а также падежа молодых животных и отставания больных животных от здоровых в росте и развитии. Заражение животных гельминтами ведет к перерасходу кормов на единицу продукции и к повышению ее себестоимости. Соглас-

но исследованиям при смешанных формах гельминтозов падеж молодняка достигает 15–30 %; суточные привесы снижаются на 20–40 % [1].

По данным ряда исследователей, при ассоциативных гельминтозах незримый экономический ущерб в 10–20 раз превышает ущерб от гибели животных [1, 2, 5, 8].

Поэтому несомненный научный и практический интерес для Беларуси представляет изучение ассоциативных паразитозов молодняка крупного рогатого скота при современных условиях и технологиях содержания и разработка средств и способов поддержания их здоровья.

Для этого необходимо провести изучение состава ассоциаций паразитов молодняка крупного рогатого скота на нынешний период времени, оценить эпизоотическую ситуацию и предложить в практику современную систему лечебных и профилактических мероприятий с учетом условий содержания и привлечением новых эффективных препаратов.

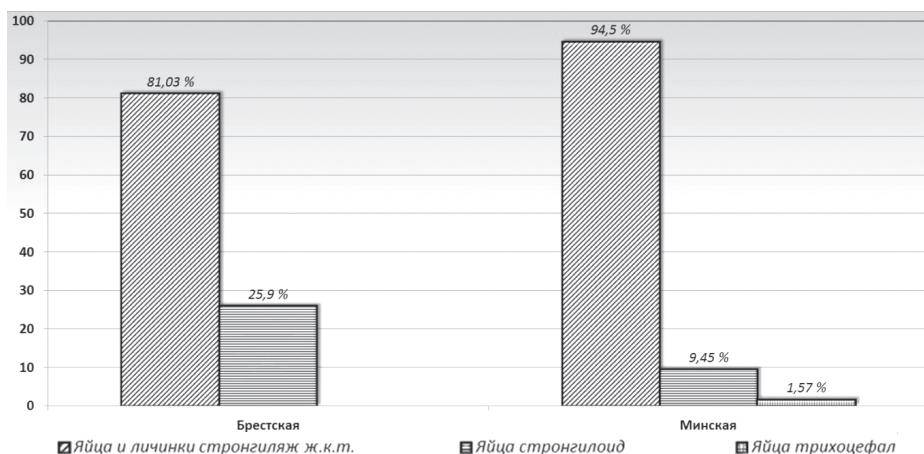
Инвазия, вызванная гельминтами, протекает с присущими ей подъемами и спадами: острая фаза сменяется латентным течением с последующим усилением патологических процессов на фоне относительного равновесия в системе «хозяин – паразит», где паразит оказывает иммунодепрессивное действие на организм хозяина, что позволяет ему длительно паразитировать в благоприятных условиях. Благодаря выявлению этих закономерностей появляется возможность более точно и своевременно оказать лечение и тем самым снизить экономический ущерб.

Материалы и методы. С целью первичной статистической оценки обстановки по распространению ассоциативных гельминтозов молодняка крупного рогатого скота был проведен анализ проб фекалий, поступивших из хозяйств Минской и Брестской областей. Всего было исследовано 198 проб фекалий.

Выявление яиц гельминтов в пробах фекалий проводили методом Г. А. Котельникова и В. М. Хренова (1974).

Результаты исследований. В соответствии с проведением гельминтологических исследований проб, поступивших из хозяйств Минской и Брестской областей, можно сказать, что наиболее часто выявляются положительные пробы с содержанием яиц стронгилят желудочно-кишечного тракта со средней и высокой степенью интенсивности инвазии. Причем такая закономерность характерна для хозяйств как Минской, так и Брестской областей (см. рисунок).

Реже регистрировались пробы с яйцами стронгилоид, причем процент положительных проб из Брестской области значимо выше по сравнению с Минской ($p \leq 0,01$). Пробы с яйцами трихоцефал выявлялись спорадически и поступали из хозяйств Минской области.



Гельминтофауна молодняка крупного рогатого скота хозяйств
Минской и Брестской областей

Заключение. Таким образом, преобладающими гельминтозами молодняка в хозяйствах Минской и Брестской областей являются стронгилятозы желудочно-кишечного тракта, которые регистрируются как моноинвазии, так и в форме ассоциаций с стронгилоидозом и трихоцефалезом.

Исследования по распространению паразитозов молодняка в Республике Беларусь в условиях современного скотоводства будут продолжены. Кроме этого, для обеспечения эффективной системы лечебных и профилактических мероприятий при ассоциативных гельминтозах молодняка в республике необходимо в дальнейшем установить особенности патогенеза при паразитарных болезнях молодняка, наиболее часто регистрируемых в скотоводческих хозяйствах, и изыскать современные препараты с использованием эффективных субстанций против широкого спектра паразитов, не снижающих иммунитет и обмен веществ в организме животного.

Литература

1. Даугалиева, Э. Х. Иммунобиологическая реактивность сельскохозяйственных животных при гельминтозах / Э. Х. Даугалиева, В. И. Колесников, С. В. Новицкий. – Ставрополь, 1997. – 34 с.
2. Мироненко, В. М. Эймериоз крупного рогатого скота в условиях промышленного скотоводства Республики Беларусь / В. М. Мироненко, А. И. Ятусевич // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. – С. 99–100.
3. Пахноцкая, О. П. Иммунный статус телят при криптоспориidioзе / О. П. Пахноцкая, М. В. Якубовский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. – 2016. – № 1. – С. 42–47.
4. Щемелёва, Н. Ю. Ассоциативные нематодозы желудочно-кишечного тракта телят и новые препараты для их терапии / Н. Ю. Щемелёва, М. В. Якубовский, В. П. Василькова // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2017. – № 2. – С. 60–65.

5. Щемелёва, Н. Ю. Влияние эймериозной инвазии на уровень клеточной иммунной защиты молодняка крупного рогатого скота / Н. Ю. Щемелёва, М. В. Якубовский, В. П. Василькова // Экология и животный мир. – 2016. – № 2. – С. 3–7.

6. Щемелёва, Н. Ю. Трихоцефалез животных / Н. Ю. Щемелёва, С. С. Гапоненко // Экология и животный мир – 2017. – № 1. – С. 3–7.

7. Эпизоотическая ситуация по ассоциативным нематодозам желудочно-кишечного тракта телят / Н. Ю. Щемелёва [и др.] // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. – 2017. – № 2. – С. 27–32.

8. Якубовский, М. В. Иммуитет животных в различных паразитарных системах / М. В. Якубовский, Т. Я. Мяцова // Паразитарные болезни и паразитоценозы животных : материалы V науч.-практ. конф. Междунар. ассоциации паразитоценологов, г. Витебск, 24–27 мая 2016 г. / УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2016. – С. 210–213.

9. Якубовский, М. В. Особенности эпизоотологии и современные технологии профилактики паразитарных зоонозов: криптоспоридиоз / М. В. Якубовский // Ветеринарное дело. – 2016. – № 9. – С. 4–6.

УДК 619.576.895.75.614.449.57

Ф. С. Пулотов,

кандидат ветеринарных наук, (PhD) старший научный сотрудник

М. Ю. Рахимов,

кандидат ветеринарных наук, (PhD) младший научный сотрудник

А. Ш. Исмоилов,

младший научный сотрудник

Д. М. Болтаев,

докторант

А. А. Джалолов,

докторант

*Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии,
пос. Тайляк, Республика Узбекистан*

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭКТО- И ЭНДОПАРАЗИТОВ У ЖИВОТНЫХ

Резюме. В статье представлены сведения об экто- и эндопаразитах, распространенных среди сельскохозяйственных и лабораторных животных, а также на территориях животноводческих ферм.

Ключевые слова: антропоген, нимфа, иксод, имаго, эктопаразит, эндопаразит, зоофил, синбовил, паразит, клещ.

Summary. The article presents information on the spreading of common pest ecto- and endoparasites among farm and laboratory animals, as well as in the areas of livestock farms.

Keywords: anthropogen, nymph, ixod, imago, ectoparasite, endoparasite, zoophile, synbovil, parasite, tick.

Введение. В последние годы происходят серьезные биоэкологические сдвиги, сукцессии в результате воздействия антропогенных факторов, аномальных и рукотворных структур на природу, вследствие чего увеличивается миграция вредных и полезных видов в биоценозах, нарушается биоразнообразие, появляются нетипичные, стойкие, мутантные, резистентные биопатогены, возникают новые паразитические системы, экзогенные популяции, новое фаунистическое состояние. Известны случаи образования чрезвычайно опасных трансмиссивных и естественных заболеваний, которые ранее были снижены или утрачены. Поэтому изучение распространения вредных экто- и эндопаразитов, обнаруженных у сельскохозяйственных и лабораторных животных, и создание новых методов и биохимических средств борьбы с ними актуальны для ветеринарной практики.

Цель исследования заключается в изучении распространения экто- и эндопаразитов в организме сельскохозяйственных и лабораторных животных.

Методы исследования. Было проведено визуальное наблюдение, микроскопическое и специальные паразитологические исследования методами, принятыми в ветеринарии и медицине.

Результаты исследований. Всего в научно-исследовательских ветеринарных лабораториях в различных регионах, а именно в Тойлогском, Пайаригском, Нурободском районах Самаркандской области, Китабском районе Кашкадарьинской области, Нуротском районе Навои, Олтинкольском районе Андижанской области, Нукусском районе Республики Каракалпакстан, было исследовано 3 036 голов крупного рогатого скота, 32 477 голов овец, 2 959 голов коз, 42 белых мыши, 68 кроликов, 2 собаки и другие животные. Была изучена морфология, определены вид, пол, систематика обнаруженных эндо- и эктопаразитов (табл. 1).

Таблица 1. Виды экто- и эндопаразитов, регистрируемые среди животных

Разновидность животных	Виды экто- и эндопаразитов	Диагностируемые паразитарные заболевания	
		Хиаломмоз	Акароз
Крупный рогатый скот	<i>Hyalomma anatolicum</i>	Хиаломмоз	Акароз
	<i>Hyalomma plumbeum</i>	Хиаломмоз	Акароз
	<i>Hyalomma detritum</i>	Хиаломмоз	Акароз
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Рипицефалез	Акароз

Разновидность животных	Виды экто- и эндопаразитов	Диагностируемые паразитарные заболевания	
	<i>Rhipicephalus bursa</i>	Рипицефалез	Акароз
	<i>Rhipicephalus turanicus</i>	Рипицефалез	Акароз
	<i>Alveonassus lahorensis</i>	Alveonassosis	Акароз
	<i>Dermacentor marginatus</i>	Дермацентороз	Акароз
	<i>Dermacentor spp.</i>	Дермацентороз	Акароз
	<i>Dermacentor dagestanicus</i>	Дермацентороз	Акароз
	<i>Boophilus calcaratus</i>	Boophilosis	Акароз
	<i>Haematopinus eurytetrus</i>	Гематопиноз	Энтомоз
	<i>Linognathus vituli</i>	Linognathosis	Энтомоз
	<i>Psoroptes bovis</i>	Псороптоз	Энтомоз
	<i>Bovicola bovis</i>	Бовиколез	Энтомоз
	<i>Hypoderma bovis</i>	Hypodermatosis	Энтомоз
Овцы	<i>Bovicola ovis</i>	Бовиколез	Энтомоз
	<i>Psoroptes ovis</i>	Псороптоз	Акароз
	<i>Sarcoptes ovis</i>	Саркоптоз	Акароз
	<i>Rhipicephalus bursa</i>	Рипицефалез	Акароз
	<i>Oestrus ovis</i>	Oestrosis	Энтомоз
	<i>Ctenocephalides ovis</i>	Ктеноцефалез	Энтомоз
Козы	<i>Rhipicephalus bursa</i>	Рипицефалез	Акароз
	<i>Bovicola caprae</i>	Бовиколез	Энтомоз
	<i>Ctenocephalides caprae</i>	Ктеноцефалез	Энтомоз
	<i>Linognathidae caprae</i>	Linognathosis	Энтомоз
Ослы	<i>Bovicola equi</i>	Бовиколез	Энтомоз
Цыплята	<i>Menacanthus stramenius</i>	Menacanthosis	Энтомоз
	<i>Argas persicus</i>	Argasidosis	Энтомоз
	<i>Goniocotes hologaster</i>	Goniocotosis	Энтомоз
	<i>Dermanyssus gallinae</i>	Dermanissosis	Акароз
Собаки	<i>Trichodectes canis</i>	Триходектоз	Энтомоз
	<i>Rhipicephalus turanicus</i>	Рипицефалез	Акароз
	<i>Ctenocephalides canis</i>	Ктеноцефалез	Энтомоз
Белые мыши	<i>Alloodymyssus sanguineus</i>	Аллодерманиссоз	Акароз
	<i>Laelaps echidninus</i>	Laelapsosis	Акароз
Морские свинки	<i>Gliricola porcelli</i>	Clericosis	Энтомоз
Кролики	<i>Rhipicephalus bursa</i>	Рипицефалез	Акароз
На животноводческих фермах	<i>Musca domestica</i>	–	Энтомоз
	<i>Stomoxys calcitrans</i>	–	Энтомоз
	<i>Lyperosia titillans</i>	–	Энтомоз

Таким образом, было обнаружено, что эктопаразиты, главным образом *Bovicola*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Ctenocephalidae*, и эндопаразиты *Hypoderma*, *Psoroptes* и *Oestrus*, распространены в качестве доминирующих видов среди сельскохозяйственных и лабораторных животных.

Возбудители энтомотических заболеваний (*Bovicola*, *Trichodectes* и др.) обнаруживаются в организме животных круглый год, чаще с ноября по май, при этом наблюдались возбудители иксодидоза (*Rh. bursa*, *H. anatolicum*), вызывающие больше эпизоотий в конце весны и летом (табл. 2).

Таблица 2. Степень поражения крупного рогатого скота доминирующими эктопаразитами по месяцам

Обнаруженные паразиты	Увеличение ущерба на месяцы, %											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
<i>Bovicola bovis</i>	65	74	87	98	91	22	18	15	21	25	28	45
<i>Rhipicephalus bursa</i>	0	0	14	23	68	87	94	90	53	13	3	0
<i>Hyalomma anatolicum</i>	0	0	12	20	65	80	90	80	51	10	0	0

Наиболее распространен эктопаразит *Bovicola bovis* среди крупного рогатого скота. Считается, что причины высокой распространенности в эти месяцы обусловлены такими факторами, как высокая влажность воздуха, плотное содержание животных в закрытых помещениях, недостаток солнечного света и относительно низкая сопротивляемость животных, неадекватные зоогигиенические требования к сараям для содержания скота, низкие нормативные требования к пищевым продуктам.

Было обнаружено, что этот доминирующий эктопаразит распространяется сезонно, в зависимости от степени его обширной инвазии (табл. 3).

Таблица 3. Сезонная динамика доминирующих эктопаразитов у крупного рогатого скота

Обнаруженные паразиты	Процент регистрации в зависимости от сезона			
	зима	весна	лето	осень
<i>Bovicola bovis</i>	61,3	92	18,3	24,6
<i>Rhipicephalus bursa</i>	0	35	90,3	22,7
<i>Hyalomma anatolicum</i>	0	32,3	83,3	20,3

Согласно нашим исследованиям, проведенным среди крупного рогатого скота, был зарегистрирован наиболее доминирующий вид клещей *B. bovis*. Максимальное значение (61,3–92 %) регистрировалось в основном зимой и весной, минимальное (18,3–24,6 %) – летом и осенью. Виды клещей *Rhipicephalus* и Гиаломма максимально (83,3–90,3 %) регистрировались в основном летом и минимально (20,3–35 %) – весной и осенью.

Закключение. В условиях фермерских хозяйств Самаркандской, Кашкадарьинской, Навоийской, Андижанской областей был обнаружен 41 вид экто- и эндопаразитов. Паразитарные заболевания распространены как среди сельскохозяйственных, так и у лабораторных животных.

У крупного рогатого скота выявлены следующие экто- и эндопаразиты: *Bovicola bovis*, *B. ovis*, *B. caprae*, *Ctenocephalides caprae*, *Ct. ovis*, *Oestrus ovis*, *Hyalomma anatolicum*, *H. plumbeum*, *Rhipicephalus bursa*. У собак регистрируются *Trichodectes canis*, *Rhipicephalus turanicus*, *Stenocephalides canis*, у лабораторных животных – *Allodermanyssus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*.

У крупного рогатого скота был зарегистрирован наиболее доминирующий вид клещей *B. bovis*, максимальное значение (61,3–92 %) – зимой и весной, минимальное (18,3–24,6 %) – летом и осенью. Виды клещей *Rhipicephalus* и Гиаломма максимально (83,3–90,3 %) регистрировались в основном летом и минимально (20,3–35 %) – весной и осенью.

Литература и источники

1. Akbaev, R. M. Bovikolez of cattle in livestock farms of the Moscow region / R. M. Akbaev, N. V. Pugovkina // Veterinary. – Moscow : Logos Press. – 2017. – № 1. – P. 10–13.
2. Fauna and ecology of zooparasites in zoobiocenoses [Electronic resource] / F. S. Pulatov [et al.] // Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation. – Vol. 32 (2). – Mode of access: www.turkjphysiotherrehabil.org. – Date of access: 10.08.2021.
3. Pulatov, F. S. Ecogenesis of ectoparasites of agricultural animals [Electronic resource] / F. S. Pulatov [et al.] // Eurasian Medical Research Periodical. – 2022. – Vol. 6. – P. 165–167. — Mode of access: <https://geniusjournals.org>. – Date of access: 27.03.2022.
4. Pulatov, F. S. Epizootology of Goat Fur Eaters / F. S. Pulatov, D. M. Boltayev // Journal Impact Factor: 8.7. Web of Scholars: multidimensional Research Journal (MRJ). – 2022. – Vol. 1. – P. 121–124.
5. Pulatov, F. S. The Spread of bovicolosis in sheep / F. S. Pulatov, A. A. Djalolov, K. F. Saifiddinov // Journal Impact Factor: 5.722. Central asian journal of medical and natural sciences. – 2022. – Vol. 3. – P. 239–241.
6. Pulatov, F. S. Fauna and phenoecology of zooparasites [Electronic resource] / F. S. Pulatov [et al.] // Annals of forest research Scopus journal. – 2022. – Vol. 65 (1). – P. 854–863. – Mode of access: <https://www.e-afr.org/>. – Date of access: 24.07.2022.
7. Pulatov, F. S. Fauna zooparasites [Electronic resource] / F. S. Pulatov, A. Sh. Ismoilov // International Consortium on Academic Trends of Education and Science : Euro-Asia Conference, 3–4 April 2021. – England : London. – Mode of access: <http://euroasiaconference.com>. – Date of access: 04.04.2021.
8. Ruzimuradov, A. Biological parasitism. Livestock optimization / A. Ruzimuradov. – Samarkand : «Zarafshon» Publishing House, 2011.

П. С. Коваленко,

кандидат ветеринарных наук

В. Г. Тюрин,

доктор ветеринарных наук, профессор

Н. Н. Потёмкина,

кандидат ветеринарных наук

*Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии,
гигиены и экологии – филиал ФГБНУ «Федеративный научный центр
ВИЭВ Рос. акад. наук», г. Москва, Российская Федерация*

АКТИВНОСТЬ ДЕРАТИЗАЦИОННЫХ СРЕДСТВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРЕПАРАТИВНЫХ ФОРМ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Резюме. В системе ветеринарно-санитарных мероприятий, обеспечивающих благополучие животноводства по заразным болезням, повышение продуктивности животных и санитарного качества продуктов, сырья и кормов, дератизация занимает важное место. Наиболее распространенным методом борьбы с синантропными грызунами является химический, который основан на использовании отравленных приманок. Немаловажное значение отводится препаративным формам приманок.

В лабораторных условиях изучена родентицидная активность отечественного родентицидного средства «ГрызНет-вет» в форме бумажных пакетиков и желатиновых капсул. Получены новые данные о поедаемости серыми крысами приманок в зависимости от их форм. Среднесуточная поедаемость родентицидного средства «ГрызНет-вет» в форме желатиновых капсул составляет 18–20 г/гол., в форме бумажных пакетиков – 13–19 г/гол. Поедаемость отравленных приманок выше, чем альтернативного корма.

Ключевые слова: дератизация, родентициды, приманки, препаративные формы, родентицидная активность, желатиновые капсулы.

Summary. In the system of veterinary and sanitary measures that ensure the well-being of animal husbandry in terms of infectious diseases, increase animal productivity and the sanitary quality of products, raw materials and feed, deratization occupies an important place. The most common method of combating synetropic rodents is chemical, which is based on the use of poisoned baits. Equally important is the preparative forms of baits.

Under laboratory conditions, the rodenticide activity of the domestic rodenticide «GryzNet-vet» in the form of paper bags and gelatin capsules was studied. New data have been obtained on the consumption of baits by gray rats depending on their shape. The average daily intake of the rodenticide «GryzNet-vet» in the form of gelatin capsules is 18–20 g/head, in the form of paper bags – 13–19 g/head. The palatability of poisoned baits is higher than that of alternative food.

Keywords: deratization, rodenticides, baits, preparative forms, rodenticide activity, gelatin capsules.

Введение. В системе ветеринарно-санитарных мероприятий, обеспечивающих благополучие животноводства по заразным болезням, повышение продуктивности животных и санитарного качества продуктов, сырья и кормов, дератизация занимает важное место [1, 2].

Грызуны являются переносчиками до 50 инфекционных и паразитарных болезней для животных и людей.

Мышевидные грызуны – природные резервуары возбудителей таких болезней, как туляремия, бешенство, болезнь Ауески, сальмонеллез и др., а также грибковых и гельминтозных заболеваний. К инфекционным болезням, передающимся людям, относятся бруцеллез, чума, лептоспироз, сибирская язва, риккетсиозы, дизентерия и др. [3].

Поэтому организация и проведение мероприятий по борьбе с вредными синантропными грызунами на современном этапе развития животноводства – важнейший элемент системы ветеринарно-санитарного обеспечения на животноводческих объектах, и являются неотъемлемой частью технологического процесса получения продукции.

Эффективная борьба с синантропными грызунами возможна, если в полной мере учитываются их биологические особенности, родентицидная активность и токсические свойства действующих веществ применяемых препаратов, а также препаративные формы отравленных приманок [4, 5].

В связи с этим **целью** исследований явилось изучение ротенцидной активности различных препаративных форм отечественной приманки «ГрызНет-вет» для борьбы с синантропными грызунами.

Материалы и методы. Для опытов использовали отечественную приманку на основе антикоагулянтов 2-го поколения «ГрызНет-вет».

Родентицидное средство «ГрызНет-вет» производства ООО «Дуохем-ТМ» (Россия) по НТД ООО «Разфарма» (Россия) представляет собой готовую к применению зерновую приманку, предназначенную для борьбы с синантропными грызунами. В ее состав входят следующие компоненты: бромадиолон с содержанием ДВ – 0,005 %, зерно, растительное масло, краситель красный (Родамин Б), горечь (Битрекс), консервант. Выпускается в двух препаративных формах: первая препаративная форма представляет собой готовую к применению зерновую приманку красного цвета, помещенную в твердый прозрачный желатиновый контейнер (капсулу) общей массой $0,5 \pm 0,1$ г; вторая препаративная форма данного родентицидного средства представляет собой также готовую к применению зерновую приманку красного цвета, помещенную в бумажный пакетик общей массой $15,0 \pm 5,0$ г.

В экспериментах использовали клинически здоровых животных с одинаковой массой тела одного возраста. Перед началом опытов проводили их клинический осмотр. Зверьков содержали группами (по 5–6 крыс или

5–10 мышей) или индивидуально в стандартных условиях вивария (температура воздуха 16–23 °С, относительная влажность 75–80 %, 12-часовое искусственное освещение).

Родентицидную активность препаратов определяли согласно Методическим рекомендациям по оценке эффективности, токсичности и опасности родентицидов (утвержденным ГКСЭН № 01-19/127-17, 1995 г.). С этой целью мышам и крысам скармливали отравленную приманку в различных концентрациях с использованием альтернативного корма в течение 1–5 дней.

Тест-объектами были лабораторные линии серых крыс и лабораторные домовые мыши. В каждом опыте использовали животных-аналогов в количестве 5 серых крыс и 5 домашних мышей. Кормление крыс со средством «ГрызНет-вет» осуществляли в течение 1–3, а мышей – 2–5 дней, после чего зверьков переводили на стандартный корм. В качестве альтернативного корма использовали пшеничную крупу.

Результаты исследований. В ходе научных исследований по определению родентицидной активности и поедаемости изучаемого препарата серыми крысами, представленных в табл. 1, было установлено, что количество съеденной приманки в форме желатиновых капсул в первые двое суток было выше относительно альтернативного корма на 10 % и составило на первые сутки – 20 г/гол., а на вторые – 18 г/гол. Крысы охотно поедали капсулы с первого дня опыта.

Поедаемость приманки в форме бумажных пакетов несущественно отличалась от альтернативного корма и составила от 13 до 19 г/гол.

Таблица 1. Родентицидная активность и поедаемость различных форм средства «ГрызНет-вет» на серых крысах

Форма средства	Количество		Продолжительность кормления, дней	Среднесуточная поедаемость, $M \pm m$, г/гол.		Процент гибели
	опытов	подопытных крыс, гол.		опыт	контроль	
Желатиновые капсулы	3	5	1	20,0 ± 0,4	18,0 ± 0,41	100
	3	5	2	18,0 ± 0,3	16,0 ± 0,39	100
	3	5	3	16,0 ± 0,1	13,0 ± 0,2	100
Бумажные пакеты	3	5	1	19,0 ± 0,15	18,0 ± 0,18	100
	3	5	2	17,0 ± 0,2	16,0 ± 0,15	100
	3	5	3	13,0 ± 0,13	10,0 ± 0,2	100

Следует отметить, что в первый день опытов поедаемость приманки «ГрызНет-вет» в форме желатиновых капсул выше на 5 % по сравнению с аналогичными показателями при использовании этого же препарата в форме бумажных пакетов. На второй день кормления не было существен-

ных различий, а на третьи сутки поедаемость приманки в виде бумажных пакетов уменьшилась на 19 % по сравнению с формой желатиновых капсул.

Одновременно были проведены аналогичные научные исследования по определению родентицидной активности и поедаемости различных форм препарата «ГрызНет-вет» на домовых мышах. Результаты исследований приведены в табл. 2.

Таблица 2. Родентицидная активность и поедаемость различных форм средства «ГрызНет-вет» на домовых мышах

Форма средства	Количество		Продолжи- тельность кормления, дней	Среднесуточная поедаемость, $M \pm m$, г/гол.		Процент гибели
	опытов	подопытных крыс, гол.		опыт	контроль	
Желатиновые капсулы	3	10	2	$6,0 \pm 0,09$	$5,0 \pm 0,07$	100
	3	10	3	$6,0 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,08$	100
	3	10	4	$3,0 \pm 0,06$	$4,5 \pm 0,07$	100
	3	10	5	$1,5 \pm 0,05$	$3,0 \pm 0,07$	100
Бумажные пакеты	3	10	2	$7,0 \pm 0,09$	$5,5 \pm 0,08$	100
	3	10	3	$6,0 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,08$	100
	3	10	4	$4,5 \pm 0,09$	$3,0 \pm 0,08$	100
	3	10	5	$2,0 \pm 0,07$	$2,0 \pm 0,07$	100

В соответствии с данными табл. 2 поедаемость приманки в форме желатиновых капсул во второй день опыта была выше на 10 % по сравнению с альтернативным кормом, а с третьего дня уменьшалась от 8 до 50 %. Следует отметить, что количество поедаемой мышами приманки, как и корма в целом, уменьшалось с 4-го дня и до момента их гибели. Среднесуточное количество съеденной приманки колебалось от 1,5 до 6 г/гол.

Что касается поедаемости мышами приманки в форме бумажных пакетов, то во второй день она составила 7,0 г/гол., что на 21 % выше поедаемости альтернативного корма, в третий – 6,0 г/гол., что выше на 25 %. В последующие дни поедаемость приманки снижалась до 2,0 г/гол./сут., как и корма в целом.

Также следует отметить, что среднесуточная поедаемость приманки в форме желатиновых капсул при различной продолжительности кормления (2-, 3-, 4- и 5-дневном) на 14,3–33,3 % меньше, чем при использовании препарата в форме бумажных пакетов.

Согласно анализу результатов исследований, представленных в табл. 1 и 2, средство «ГрызНет-вет», содержащее 0,005 % бромадиолона, эффективно действует как на серых крыс, так и на домовых мышей при наличии альтернативного корма и приводит к 100%-й гибели серых крыс в течение 4–6 суток, а домовых мышей – 6–9 суток. Приманка хорошо и с интересом поедается и не вызывает реакции избегания у грызунов.

Заключение. Отечественное дератизационное средство «ГрызНет-вет» в форме желатиновых капсул и бумажных пакетиков эффективно действует как на серых крыс, так и на домашних мышей при наличии альтернативного корма и приводит к 100%-й гибели подопытных животных в течение 4–5 суток независимо от продолжительности скормливания.

Среднесуточная поедаемость дератизационного средства «ГрызНет-вет» в форме желатиновых капсул у крыс составляет 18–20 г/гол., у мышей – 1,5–6 г/гол., а среднесуточная поедаемость дератизационного средства «ГрызНет-вет» в форме бумажных пакетиков у крыс составляет 13–19 г/гол., у мышей 2–7 г/гол.

Литература

1. *Смирнов, А. М.* Ветеринарно-санитарные и зоогигиенические мероприятия в свиноводстве / А. М. Смирнов, В. Г. Тюрин // Ветеринария. – 2012. – № 9. – С. 3–8.
2. *Сон, К. Н.* Ветеринарная санитария на предприятиях по производству и переработки сырья животного происхождения : учеб. пособие / К. Н. Сон, В. И. Родин, Э. В. Беспалеев. – СПб. : Лань, 2013. – 416 с.
3. *Крысы и борьба с ними* / Д. Ф. Траханов [и др.]. – Ижевск : ВНИИВСГЭ, 1994.
4. *Методы и способы борьбы с грызунами в птицеводстве* / А. Ф. Кадиров [и др.] // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве : материалы XVII Междунар. конф. – Сергиев Посад, 2012. – С. 550–551.
5. *Рыльников, В. А.* Управление популяциями целевых видов грызунов (на примере серой крысы (*Rattus norvegicus* Berk.)) / В. А. Рыльников // РЭТ-инфо. – 2006. – № 3 (59) – С. 48–53.

2. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

УДК 636.09.579.62

К. Е. Ильина,
аспирант¹

А. А. Духовский,
кандидат ветеринарных наук²

Н. А. Шкиль,
доктор ветеринарных наук, профессор^{1, 3}

¹*Сибирский Федеральный научный центр агробиотехнологий
Рос. акад. наук, Российская Федерация;*

²*Национальный союз свиноводов, Российская Федерация;*

³*Новосибирский государственный аграрный университет,
г. Новосибирск, Российская Федерация*

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ЭНТЕРОТОКСИГЕННОЙ *ESCHERICHIA COLI*, ИЗОЛИРОВАННОЙ ОТ СВИНЕЙ

Резюме. При исследовании 112 проб биологического материала от свиней с клинической картиной диареи и отечной болезни поросят в 80,35 % случаев выделяли микроорганизмы вида *Escherichia coli* (*E. coli*). При этом энтеротоксигенные штаммы без гемолитической активности выделялись в 29 случаях (32,2 %), а с бета-гемолитическими свойствами – в 12 (13,3 %) случаях.

Изучение чувствительности к 20 антибиотикам 10 фармакологических групп показало, что изолированные кишечные палочки были резистентны к макролидам, линкозамидам, плевромутинам (81,2–100,0 %), тетрациклинам, сульфаниламидам, фторхинолонам (61,6–77,2 %). При анализе антимикробной активности отдельных препаратов было установлено, что 12 (60,0 %) от числа изученных оказались не эффективными в отношении изолированных микроорганизмов. Выделенные культуры кишечной палочки проявляли высокую чувствительность только к полипептидам.

Ключевые слова: болезни свиней, кишечная палочка, факторы вирулентности, патотипы *E. coli*, антибиотикорезистентность.

Summary. In the study of 112 samples of biological material from pigs with a clinical picture of diarrhea and edematous disease of piglets, microorganisms of the *Escherichia coli* species were isolated in 80,35 % of cases. At the same time, enterotoxigenic strains without hemolytic activity were isolated in 29 cases (32,2 %), and with beta-hemolytic properties – in 12 (13,3 %) cases.

The study of sensitivity to 20 antibiotics of 10 pharmacological groups showed that isolated *Escherichia coli* were resistant to macrolides, lincosamides, pleuromutins (81,2–100,0 %), tetracyclines, sulfonamides, fluoroquinolones (61,6–77,2 %). An analysis of the antimicrobial activity of individual preparations showed that 12 (60,0 %) of the studied drugs were not effective against isolated microorganisms. Isolated cultures of *Escherichia coli* showed high sensitivity only to polypeptides.

Keywords: swine diseases, *E. coli*, virulence factors, *E. coli* pathotypes, antibiotic resistance.

Введение. Желудочно-кишечные заболевания бактериальной этиологии с участием *E. coli* являются актуальной проблемой и оказывают влияние на экономику свиноводства. Для снижения заболеваемости и падежа поросят необходимо принятие мер на начальной стадии вспышки инфекции, посредством своевременной диагностики, основанной на анализе анамнеза, клинических признаков, данных лабораторных и патологоанатомических исследований [3, 7].

Актуальной проблемой профилактики и лечения эшерихиозов является формирование лекарственно-устойчивых штаммов и снижение терапевтической эффективности антибиотиков. Для ее решения необходимо дальнейшее изучение чувствительности к антибактериальным препаратам изолированной микрофлоры и избирательное использование противомикробных препаратов при терапии сельскохозяйственных животных, особенно свиньям и домашней птице [5, 8].

Escherichia coli представляет собой грамотрицательную, палочковидную, жгутиковую, неспорообразующую, факультативно-анаэробную бактерию, принадлежащую к семейству *Enterobacteriaceae*. Она является оксидазоотрицательной и метаболизирует широкий спектр веществ, таких как углеводы, белки, аминокислоты, липиды и органические кислоты, производит каталазу и глюкозу и использует аммиак в качестве единственного источника углерода и азота [6, 10].

Несмотря на то, что кишечная палочка входит в состав нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека и животных, некоторые штаммы являются патогенными и обладают факторами колонизации, с помощью которых они прикрепляются к ворсинкам кишечника [1, 4, 9]. Их можно разделить на шесть групп: энтеропатогенная кишечная палочка (ЕРЕС), энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЕНЕС), энтеротоксигенная кишечная палочка (ЕТЕС), энтероагрегативная кишечная палочка (ЕАЕС), энтероинвазивная кишечная палочка (ЕИЕС) и диффузно-адгезивная кишечная палочка (ДАЕС) [7].

Энтеротоксигенный, энтеропатогенный и шигатоксигенный патотипы *Escherichia coli* являются основными патогенами, ответственными за неонатальную диарею, диарею после отъема и отечную болезнь поросят, поражающими животных почти всех возрастных групп [2, 9].

Энтеротоксигенная кишечная палочка является основным этиологическим агентом, вызывающим диарею поросят после отъема. Патотипы ЕТЕС, изолированные от свиней, характеризуются экспрессией специфических фимбриальных адгезинов, которые опосредуют бактериальную колонизацию поверхности слизистой оболочки кишечника [5, 10].

Адгезивные фимбрии, наиболее часто встречающиеся у энтеротоксигенной *E. coli*, изолированной от свиней, относятся к типам F4 (ранее известный как K88) и F18 (F107, 2134P, 8813). Реже встречаются патотипы с адгезинами F5 (K99), F6 (987P) и F41 [6]. Основными энтеротоксинами, синтезируемыми энтеротоксигенной кишечной палочкой, являются термолабильный (LT), термостабильные (STa) и (STb) токсины. Некоторые штаммы могут продуцировать как энтеротоксины, так и шигатоксин (Stx2e) [6, 7]. Энтеротоксины вызывают дисбаланс в абсорбции и секреции электролитов и воды энтероцитами, что приводит к диарее, обезвоживанию и гибели животных. Энтеротоксигенная кишечная палочка способна продуцировать несколько токсинов, различающихся молекулярной массой, структурой, а также биологической и иммунологической активностью [8, 10]. Энтеротоксигенные кишечные палочки, выделенные от поросят с синдромом диареи, несут разные типы факторов вирулентности, которые могут усиливать патогенность за счет синергетического эффекта [6].

Цель исследования: изучить частоту выделения и чувствительность к антибиотикам различных фармакологических групп энтеротоксигенной *E. coli*, изолированной из биологического и патологического материала от свиней.

Материалы и методы. Исследование биологического материала от свиней с клинической картиной диареи и отечной болезни, содержащихся на промышленных комплексах в Сибирском федеральном округе, проводили в ветеринарно-диагностическом центре «Алекрис – консалтинг».

Выделение микроорганизмов проводили на общих и дифференциально-диагностических питательных средах, с последующей идентификацией чистых культур на патотипы.

Для выделения *E. coli* из исследуемого материала делали посеvy на среды Эндо и (или) МакКонки, мясо-пептонный агар (МПА). Засеянные чашки помещали в термостат при температуре 37 °C на 18–24 ч.

Для исследования отбирали колонии, которые на плотных питательных средах образовывали круглые с гладкой, выпуклой поверхностью колонии, ровным краем, диаметром 2–4 мм. На МПА – колонии полупрозрачные,

сероватого цвета. На средах Эндо и МакКонки за счет ферментации лактозы и закисления среды колонии приобретают цвет индикаторов: на среде Эндо – красные, малиново-красные с металлическим блеском или без него; на среде МакКонки – розовые, красные (отдельные штаммы эшерихий могут не ферментировать лактозу и формировать бесцветные колонии).

Для изучения энтеротоксигенности и гемолитических свойств дополнительно пересеивали колонии на кровяной агар.

С помощью биохимических тестов проводили родовую и видовую идентификацию культур микроорганизмов с использованием биохимического набора для *Enterobacteriaceae* (Rapid ONE System), Thermo Fisher Scientific.

Антибиотикочувствительность выделенных изолятов исследовали методом нанесения стандартных дисков антибиотиков на засеянный газон культуры с использованием агара Мюллера – Хинтона (метод Кирби – Бауэра). Учет проводили по наличию зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков, что свидетельствовало о степени резистентности или чувствительности микроорганизма к данному антибиотику.

Результаты исследований. При проведении исследований из 112 проб биологического материала было выделено и идентифицировано 90 изолятов *E. coli*. Морфологические, биохимические и культуральные свойства выделенных изолятов были характерны для вида *Escherichia coli*.

Анализируя результаты исследований, можно отметить, что *E. coli* патотипа ЕРЕС (энтеропатогенная) изолировалась только из кишечника в 4 (4,44 %) случаях.

E. coli патотипа ЕТЕС (энтеротоксигенная) без гемолитической активности изолировалась из кишечника, ректальных мазков и фекалий в 29 (32,22 %) случаях. Бета-гемолитическая *E. coli* патотипа ЕТЕС выделялась только из кишечника в 12 (13,33 %) случаях. Изоляты, которые не были отнесены ни к одному из изучаемых патотипов, выделяли из кишечника, его содержимого и ректальных мазков в 45 (50,0 %) случаях.

Исследование профилей чувствительности/устойчивости выделенных культур микроорганизмов к антибиотикам актуально в практике контроля инфекционного и эпизоотического процессов.

Результаты исследований антимикробной активности препаратов показали, что выделенные штаммы энтеротоксигенной *E. coli* резистентны к следующим группам антибиотиков: макролиды, линкозамиды, плевомутины (81,25–100,00 %), тетрациклины, сульфаниламиды, фторхинолоны (61,60–77,28 %).

Таким образом, из 10 групп антимикробных препаратов, широко применяемых при лечении и профилактике бактериальных инфекций животных, 6 (60,00 %) групп оказались не эффективными в отношении изучае-

мых изолятов. Устойчивость к антимикробным препаратам колебалась от 61,6 до 100,0 %.

Антибактериальные препараты групп бета-лактамов, аминогликозидов и фениколов показали промежуточные результаты, резистентность не превышала 48,70 %. И только к группе полипептидов выделенные изоляты не проявили устойчивости.

При анализе антимикробной активности отдельных препаратов было выявлено, что 12 (60,00 %) от числа изученных оказались не эффективными в отношении изолированных культур. *E. coli* обладала резистентностью от 57,70 до 76,20 % к энрофлоксацину, ципрофлоксацину, триметоприму и сульфометоксазолу; от 77,0 до 100,0 % – к амоксициллину (25 мкг), линкомицину, доксициклину (30 мкг), тетрациклину, окситетрациклину, хлортетрациклину, тилозину, тилмикозину, тиамулину.

Промежуточные результаты чувствительности получены при анализе 5 (25,00 %) отдельных препаратов, таких как гентамицин, неомицин, флорфеникол, амоксициллин (30 ug), доксициклин (30 ug). И только к 3 (15,0 %) препаратам, таким как амоксициллин и клаулановая кислота, колистин и полимиксин, выделенные изоляты проявили чувствительность.

Заключение. С ростом желудочно-кишечных заболеваний свиней с участием бактерий вида *E. coli* увеличивается значительный экономический ущерб в промышленном свиноводстве. При исследовании биологического и патологического материала от свиней с синдромом диареи в 80,35 % случаев выделяются микроорганизмы из группы кишечной палочки различных патотипов. При этом энтеротоксигенные патотипы выделялись в 33,22 %, бета-гемолитические энтеротоксигенные патотипы – в 13,33 % случаев.

Изучение чувствительности выделенных изолятов к 20 антибиотикам 10 групп показало, что выделенные штаммы *E. coli* обладают полирезистентностью к различным группам антибактериальных препаратов. Двенадцать антибактериальных препаратов из семи групп были полирезистентны в 57,7–100 % случаев. Только 3 препарата (15,0 %), такие как амоксициллин совместно с клаулановой кислотой, колистин и полимиксин, показали высокую чувствительность (63,5–100 %) к изолированным микроорганизмам.

Таким образом, при назначении антибактериальной терапии необходимо проводить определение чувствительности изолированной микрофлоры к антибактериальным препаратам, а также анализировать в ретроспективе эффективность их применения.

Литература

1. Диарейные заболевания свиней и их влияние на эффективность производства : материалы VII науч.-практ. конф. «Ветеринария в свиноводстве 2018», Новосибирск, 2018 г. / отв. ред. С. А. Кукушкин. – Новосибирск, 2018. – С. 42–51.
2. Прудников, С. И. Контроль ассоциированных эпизоотических процессов инфекционных болезней молодняка свиней технологическими методами / С. И. Прудников, Т. М. Прудникова // Научное обеспечение ветеринарных проблем в животноводстве : сб. науч. тр. / РАСХН. Сиб. отд-ние. ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 2000. – С. 299–310.
3. Скориков, А. В. Ассоциативные болезни свиней и их этиологическая структура в свиноводческих хозяйствах // Ветеринария Кубани. – 2019. – № 4. – С. 8–10.
4. Aasmae, B. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from Estonian cattle and swine from 2010 to 2015 / B. Aasmae, L. Hakkinen // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 2019. – Vol. 61. – № 5. – P. 1–8.
5. Bessone, F. A. Presence and characterization of *Escherichia coli* virulence genes isolated from diseased pigs in the central region of Argentina / F. A. Bessone, G. Bessone // *Veterinary World*. – 2017. – Vol. 10. – P. 939–945.
6. Garcia, V. F4- and F18-Positive Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolates from Diarrhea of Postweaning Pigs: Genomic Characterization / V. Garcia, M. Gambino // *American Society for Microbiology*. – 2020. – Vol. 86. – № 23. – P. 1–18.
7. Li, S. Prevalence and characterization of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from piglets suffering post-weaning diarrhea in Shandong Province, China / S. Li, L. Wang // *Vet. Med. Sci.* – 2020. – № 6. – P. 69–75.
8. Pereira, D. A. Virulence factors of *Escherichia coli* in relation to the importance of vaccination in pigs / D. A. Pereira, M. C. Vidotto // *Ciencia Rural ; Santa Maria*. – 2016. – Vol. 46. – № 8. – P. 1430–1437.
9. Vanier, G. A new multidrug-resistant enterotoxigenic *Escherichia coli* pulsed-field gel electrophoresis cluster associated with enrofloxacin non-susceptibility in diseased pigs / G. Vanier, G. Desmarais // *Journal of Applied Microbiology*. – 2020. – № 130. – P. 707–721.
10. Vogt, N. A. Using whole-genome sequence data to examine the epidemiology of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from wild mesomammals and environmental sources on swine farms, conservation areas, and the Grand River watershed in southern Ontario, Canada / N. A. Vogt, B. M. Hetman // *PLoS ONE*. – 2022. – Vol. 17. – № 4. – P. 1–23.

Е. Л. Красникова,
старший научный сотрудник

А. Н. Притыченко,
кандидат ветеринарных наук, доцент

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

БИОЛОГИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД В ДИАГНОСТИКЕ БОЛЕЗНИ АУЕСКИ

Резюме. На лабораторной чувствительной модели изучены клиническая и патолого-анатомическая картина, а также влияние вида биологического и патологического материала на результаты выявляемости возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Установлено, что возбудитель выделяется со слюной в течение 48–72 ч, обнаруживается после вскрытия в легких, печени, почках, селезенке, головном мозге, а также в мышцах в месте непосредственной инокуляции вируса.

Ключевые слова: ПЦР-диагностика, болезнь Ауески, биологический материал вирус, ДНК.

Summary. On a laboratory sensitive model, the clinical and pathoanatomical picture, as well as the influence of the type of biological and pathological material on the results of the detection of the causative agent of Aujeszky's disease in the polymerase chain reaction, were studied. It has been established that the pathogen is excreted with saliva within 48–72 hours, is found after opening in the lungs, liver, kidneys, spleen, brain, as well as in the muscles at the site of direct inoculation of the virus.

Keywords: PCR-diagnostics, morbus Aujeszky, Pseudorabies, virus, biological material, PRDC, DNA

Введение. *Болезнь Ауески (morbus Aujeszky)* – остропротекающая инфекционная болезнь всех видов домашних и диких животных, проявляющаяся признаками поражения центральной нервной системы, воспалением легких, лихорадкой, зудом и расчесами у всех животных, кроме свиней, норок и соболей [1, 2].

Болезнь Ауески свиней встречается во всех странах мира, в том числе и в Республике Беларусь, где ежегодно регистрируется от 2 до 10 неблагополучных пунктов по этой болезни [3–5].

Экономический ущерб складывается из падежа (отход молодняка свиней может достигать до 90 %), вынужденного убоя, снижения прироста массы животного, потери племенных качеств, выбраковки туш, абортот, затрат на ликвидацию, общую и специфическую профилактику болезни [3, 4, 6].

Вирус псевдобешенства (PRV), также называемый *вирусом герпеса* типа 1, является возбудителем болезни Ауески, поражающей свиней как первичных хозяев и резервуаром вируса. Кроме того, существуют данные, по которым возбудитель болезни Ауески является одним из первичных патогенов PRDC (the diagnostics of porcine respiratory disease complex – комплекса респираторной патологии свиней) [1, 6, 7].

Непрерывный мониторинг обеспечивается современными ПЦР тест-системами, обнаруживающими геном вируса болезни Ауески как в биологическом, так и в патологическом материале, а также выявлением антител методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотках крови животных. Наиболее чувствительными лабораторными животными для изучения вирулентности и патогенности вируса болезни Ауески являются кролики, кроме того используют лабораторных крыс и мышей [4].

Цель исследования – изучить клиническую картину и патологоанатомические изменения, возникающие у чувствительных лабораторных объектов при заражении вакцинным штаммом вируса болезни Ауески, а также возможность обнаружения возбудителя болезни Ауески в различном биологическом и патологическом материале. Определить чувствительность, специфичность, повторяемость результатов тест-системы для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески методом полимеразной цепной реакции в патологическом материале.

Материалы и методы. Объекты испытаний – кролики весом 2,5 кг в количестве трех голов (1 контрольный, 2 опытных кролика), вирус болезни Ауески 5,2 lg TCD₅₀/ml, штамм КМИЭВ-117, КМИЭВ-106. Заражение кроликов проводили внутримышечно в область бедра в объеме 0,5 мл вируса болезни Ауески, штамм КМИЭВ-117. Контрольному кролику вводили 0,85%-й изотонический раствор в объеме 0,5 мл. Место инъекции предварительно выстригали и обрабатывали спиртом-ректификатом 70°.

Общее состояние животного и места инъекции контролировали ежедневно. Кролики содержались в летнем боксе, температура в закрытом помещении 5 °С. Клетки металлические стандартные для лабораторного содержания кроликов. Рацион – капуста, морковь, сено и комбикорм. Вода – в свободном доступе постоянно.

Материал, который контактировал с живым вакцинным вирусом, обрабатывали 5%-м раствором гидроокиси натрия и утилизировали в соответствии с требованиями СанПиН.

Патологический материал отбирали свежим, на границе здоровой и пораженной ткани. В качестве объектов исследований использовали кусочки почек, печени, селезенки и легких, участок головного мозга и кусочки мышц измельчали в ступке до гомогенной массы, с физраствором. Затем

центрифугировали при 13 тыс. об/мин, в исследование брали надосадочную жидкость.

В качестве биологического материала для изучения использовали слюну.

Выделение ДНК проводили набором ДНК/ВК фирмы ИБОХ (Беларусь) согласно прилагаемой инструкции.

Выделенную ДНК хранили при температуре -25°C .

Для постановки ПЦР в работе использовали набор ТУ ВУ 600049853.005-2015 (далее – набор «PCR AUEZSKY»), разработанный в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского». Набор рассчитан на 20–100 исследований. Его использовали согласно разработанной инструкции.

Амплификацию выполняли на амплификаторе «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США).

Электрофорез проводили при напряжении 15 В/см геля в течение 60 мин. Электрофоретическую детекцию осуществляли в 2%-м агарозном геле, в который добавляли бромистый этидий. Учет результатов проводили на Gel Doc XR в программе imageLab Software, BIO-RAD (США). При наличии положительных образцов в результате ультрафиолетового облучения поверхности геля при длине волны, равной 254 нм или 310 нм, выявлялось свечение в красной области спектра (положительный контрольный образец в виде светящейся полосы, соответствующей маркеру на уровне 194 пары нуклеотидов (п. н.) красно-оранжевого цвета). Кроме того, определяли чувствительность, надежность, прецизионность и специфичность метода, используемого в наших исследованиях.

Результаты исследований. Согласно полученным результатам наблюдения в **первые сутки** (24 ч после заражения) видимых клинических признаков нет, кролики не угнетены, аппетит сохранен. Реакция в месте введения антигена отсутствует. Контрольный кролик также без изменений. Реакция в месте введения раствора отсутствует.

2-й день. Кролик № 1 – незначительное угнетение. Реакция в зоне инъекции отсутствует. Кролик № 2 – конъюнктивит со слизисто-гнойными выделениями из глаз, ринит с гнойными выделениями. Одышка. Угнетение, отсутствие аппетита. Реакция в месте введения отсутствует. Отобраны пробы слюны и выделений. Контрольный кролик – без изменений.

3-й день. Опытные кролики угнетены, аппетит вялый, реакции в месте инъекции отсутствуют, кролик № 2 – сильный конъюнктивит, гнойный ринит, лежащее положение, не встает. Гибель кролика № 2 через 72 ч (заморожен). Контрольный кролик – без изменений.

4-й день. Гибель кролика № 1 через 96 ч (заморожен).

5-й день. Убой контрольного кролика, клинические изменения отсутствуют.

Вскрытие кроликов и отбор патологического материала. Согласно правилам отбора проб для диагностики болезни Ауески отбирали кусочки печени, легких, селезенки, почек, сердце (мышцы), головной мозг, кусочек мышцы из места инъекции.

Патологоанатомическое вскрытие. При вскрытии контрольного кролика видимых патологоанатомических изменений не обнаружено, в месте инъекции наблюдается незначительная воспалительная реакция в мышечной ткани.

Кролик № 1. Катаральная пневмония, воспаление мышечной ткани предсердий, селезенка темная, края утолщены, паренхима размягчена. Печень не увеличена, отдельные некротические очажки, точечные кровоизлияния в почках, катаральный гастроэнтерит, сосуды головного мозга увеличены. В месте инъекции разлитое воспаление мышечной ткани (мышцы темно-бордовые).

Кролик № 2. Катарально-гнойный конъюнктивит, ринит, катаральное воспаление легких верхушечных долей, сосуды сердца увеличены, правое предсердие воспалено с кровоизлияниями, селезенка увеличена, наблюдается участок белого инфаркта, печень увеличена незначительно отдельные участки некроза, катаральный гастроэнтерит, кровоизлияния в паренхиме почек точечные, инъекция сосудов мозга. В месте инъекции разлитое воспаление мышечной ткани (мышцы темно-бордовые).

Определение чувствительности и специфичности тест-систем.
Чувствительность набора «PCR AUEZSKY». Для определения чувствительности тест-системы положительную ДНК с концентрацией 5,5 нг/мкл разводили 10-кратно до 10^{-6} . Полученные результаты представлены на рис. 1.

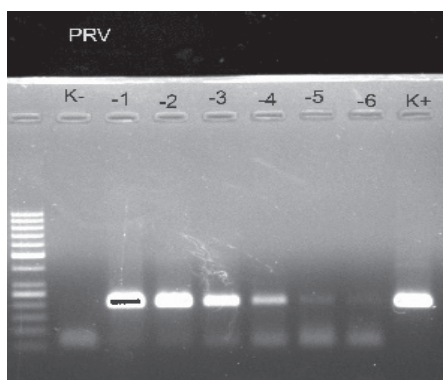


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации при использовании компонентов тест-системы для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции (K– отрицательный контрольный образец; –1...–6 – разведения 10^{-1} , –2, –3, –4, –5, –6 соответственно; K+ – положительный контроль)

Сконструированная тест-система идентифицирует геном возбудителя болезни Ауески в пробах патологического материала в разведении до 10^{-6} . Результаты проведенных исследований представлены на рис. 1.

Определение специфичности набора «PCR AUEZSKY». При определении специфичности тест-системы были отобраны пробы патологического материала от заведомо больных животных:

- свиньи с признаками респираторной патологии, окончательный диагноз – актинобациллярная плевропневмония, гемофиллез;
- свиньи с признаками респираторной и репродуктивной патологии, окончательный диагноз – репродуктивно-респираторный синдром, *Mycoplasma hyopneumoniae*;
- плазмида с участком ДНК возбудителя африканской чумы свиней;
- свиньи с признаками респираторной и репродуктивной патологии, окончательный диагноз – цирковирусная инфекция;

Окончательные диагнозы подтверждены соответствующими ПЦР тест-системами (рис. 2).

Используемая тест-система обладает специфичностью к участку генома вируса болезни Ауески и не детектирует прочие агенты (*Porcine Parvovirus*, *Porcine Circovirus*, *PRRS virus*, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, АЧС (плазмида)).

Определение повторяемости результатов набора «PCR AUEZSKY» (см. рис. 3).

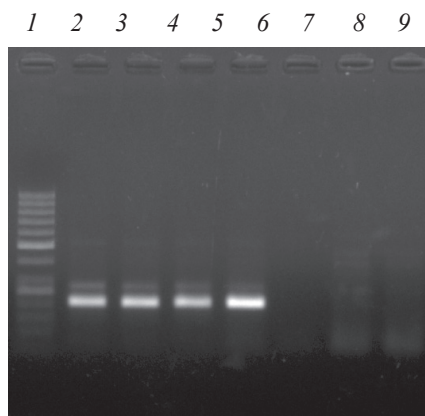


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации, полученных при использовании компонентов набора «Тест-система для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции» (1 – маркер молекулярного веса; 2 – *Pseudorabies virus* – КМИЭВ-117 5,2 lg ТЦД₅₀/мл; 3 – *Pseudorabies virus* – КМИЭВ-106 6,2 lg ТЦД₅₀/мл; 4 – *Pseudorabies virus* – КМИЭВ-106 7,0 lg ТЦД₅₀/мл; 5 – К⁺ – положительный контроль; 6 – *Porcine Circovirus*; 7 – *Actinobacillus seminis*, *Haemophilus parasuis*; 8 – плазмида АЧС; 9 – *Mycoplasma hyopneumoniae* + PRRS)

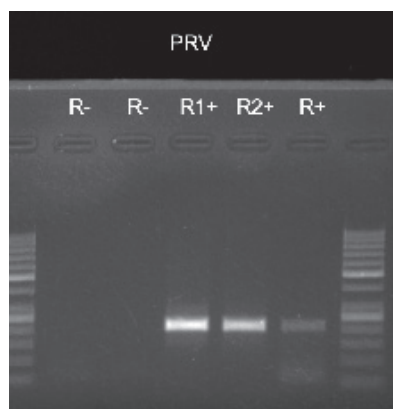


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации при использовании компонентов тест-системы для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции (R– отрицательный контроль; R1+ – положительный контроль; R2+ – положительный контроль, интервал хранения – 1 месяц; R+ – положительный контроль, интервал хранения – 6 месяцев)

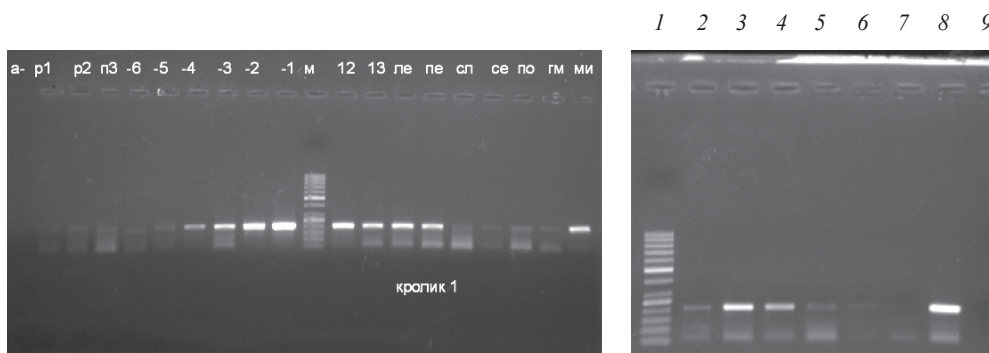


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации при использовании компонентов «Тест-система для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции» с ДНК, выделенным из биологического и патологического материала от экспериментально зараженных кроликов (слева – кролик № 1: а – отрицательный контроль; p1, p2 – повторяемость результатов разведения 10^{-5} ; p3 – повторяемость результатов разведения 10^{-4} ; -6...-1 – десятикратные разведения *Pseudorabies virus* – штамм КМИЭВ-117; м – маркер молекулярного веса 50 п. н.; 12, 13 – *Pseudorabies virus* – КМИЭВ-106 6,2 lg ТЦД₅₀/мл; ле – легкие, пе – печень, сл – слюна, се – селезенка, по – почки, гм – головной мозг, ми – место инъекции. Справа – кролик № 2: 1 – маркер молекулярного веса 50 п. н.; 2 – легкие; 3 – печень; 4 – слюна; 5 – селезенка; 6 – почки; 7 – головной мозг; 8 – место инъекции; 9 – смесь паренхиматозных органов от здорового кролика)

Согласно полученным результатам двукратные исследования положительных и отрицательных образцов с интервалом 1 месяц идентичны. Качество ДНК при хранении 6 месяцев ухудшается.

Испытания на образцах патологического материала от лабораторных животных (рис. 4). Для проведения ПЦР исследований пробы отбирали в отдельные пробирки, добавляли 500 мкл лизирующего буфера (ЛБ) из набора ДНК-ВК, замораживали, измельчали, затем выделение ДНК проводили согласно инструкции к набору для выделения ДНК-ВК фирмы ИБОХ (Минск).

Согласно полученным результатам, вирус выделяется из всех паренхиматозных органов, что подтверждается данными других исследователей. Наибольшее количество вирусной ДНК обнаруживается в легких, печени и местах инъекции патогена. В остальных органах и слюне накопление вирусной ДНК отличается незначительно. Можно предположить, что меньшее количество геномной ДНК вируса наблюдалось в головном мозге по двум причинам: очень малый объем материала для исследования и быстрая гибель животного. Наибольшее количество ДНК в месте инъекции материала объясняется очень коротким периодом от введения материала до его отбора после гибели животного [5].

В объединенном образце из патологического материала от здорового контрольного кролика геном вируса болезни Ауески не обнаружен.

Испытания на образцах патологического материала от животных свиноводческих комплексов. Для исследования были отобраны пробы патологического материала: сыворотки крови от животных, у которых наблюдается наличие антител к болезни Ауески в ИФА, и участок мозга от поросят с признаками нарушений со стороны центральной нервной системы. При проведении ПЦР исследований нами получены следующие результаты (рис. 5, 6).

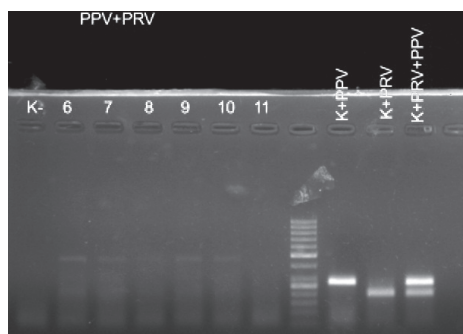
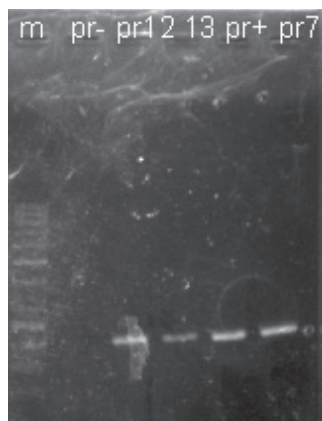


Рис. 5. Электрофореграмма продуктов амплификации при использовании компонентов «Тест-система для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески в полимеразной цепной реакции», с пробами сыворотки крови от клинически здоровых животных (К – отрицательный контроль; 6, 7, 9, 10 – положительные пробы; 8, 11 – отрицательные пробы; пустая дорожка – маркер молекулярного веса 50 п. н.; К + PPV – положительная проба с праймерами к парвовирусной болезни свиней; К + PRV – положительный контроль вируса болезни Ауески; К + PPV + PRV – мультиплекс-контроль парвовируса и вируса болезни Ауески)

Рис. 6. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК проб исследованного в ПЦР тест-системой для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески (pr- – отрицательный контроль, m – маркер молекулярного веса, 12, 13 – патологический материал – pr+, pr7 – положительный контроль)



Согласно полученным данным, из шести проб сыворотки крови от свиней, у которых обнаруживали антитела к вирусу болезни Ауески, четыре пробы слабоположительны, две – отрицательны.

Пробы патологического материала (головной мозг) от поросят с признаками нервной патологии, в полимеразной цепной реакции с набором тест-системы для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески методом полимеразной цепной реакции «PCR Auezsky» показали положительный результат (рис. 6).

Заключение. Кролики являются чувствительным лабораторным тест-объектом для изучения вируса болезни Ауески. Характерными клиническими признаками при инфицировании кроликов вирусом болезни Ауески, штамм КМИЭВ-117, были конъюнктивит со слизисто-гнойными выделениями из глаз, ринит с гнойными выделениями, угнетение, отсутствие аппетита, одышка. Гибель зараженных кроликов наблюдалась в интервале 72–96 ч.

При вскрытии обнаруживалась характерная картина патологоанатомических изменений: катаральная пневмония, воспаление мышечной ткани предсердий, селезенка темная, края утолщены, паренхима размягчена, печень не увеличена, отдельные некротические очажки, точечные кровоизлияния в почках, катаральный гастроэнтерит, сосуды головного мозга увеличены. В месте инъекции разлитое воспаление мышечной ткани.

При постановке полимеразной цепной реакции геном возбудителя обнаруживался в пробах слюны, отобранных в интервале 48–72 ч, а также после вскрытия в легких, печени, почках, селезенке, головном мозге и в мышцах – в месте непосредственной инокуляции вируса. Чувствительность используемой тест-системы составила $5,5 \cdot 10^{-6}$ нг/мкл. Специфичность – 100 % для использованных в опыте патогенов.

В качестве материала для постановки ПЦР может быть использован головной мозг, а также сыворотка крови животных.

Вирус болезни Ауески после внутримышечного введения накапливается во всех паренхиматозных органах и головном мозге, выделяется из мышечной ткани в местах инокуляции вируса, а также со слюной в течение 48–72 ч.

Набор «Тест-система для обнаружения генома возбудителя болезни Ауески» позволяет выявлять геном возбудителя болезни Ауески в пробах патологического материала, крови, обладает высокой специфичностью (6 из 6 вирусных патогенов, не являющихся возбудителями болезни Ауески, не выявлены) и чувствительностью ($5,5 \cdot 10^{-6}$ нг/мкл).

Литература

1. Klupp, B. G. Pseudorabies virus infections / B. G. Klupp // Pathogens. – Basel : Switzerland. – 2021. – № 10 (6). – P. 719.
2. He, W. Interspecies transmission, genetic diversity, and evolutionary dynamics of Pseudorabies Virus / W. He [et al.] // J. Infect. Dis. – 2019. – Vol. 219. – P. 1705–1715.
3. Dynamics of Aujeszky's disease virus infection in wild boar in enzootic scenarios / L. Casades-Martí [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2020. – № 67. – P. 388–405.
4. Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine / L. E. Pomeranz [et al.] // Microbiol Mol Biol Rev. – 2005. – № 69 (3). – P. 462–500.
5. Two modes of pseudorabies virus neuroinvasion and lethality in mice / E. E. Brittle [et al.] // J. Virol. – 2004. № 78. – P. 12951–12963.
6. Красникова, Е. Л. Комплекс респираторных патологий свиней в хозяйствах Беларуси / Е. Л. Красникова, А. С. Андруевич, О. В. Мальчик // Экология и животный мир. – 2020. – № 2. – С. 37–41.
7. Методические указания по отбору проб кормов биологического и патологического материала от животных для проведения лабораторных исследований / Е. А. Косица [и др.]. – Минск, 2019.

Н. Ю. Аникевич,
магистрант¹

М. В. Кучвальский,
научный сотрудник²

А. Н. Притыченко,
кандидат ветеринарных наук, доцент²

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского,
г. Минск, Республика Беларусь

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МИКОБАКТЕРИЙ В ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Резюме. В работе приведены результаты ПЦР ДНК *M. bovis* № 8 и *M. avium* 1603 с праймерами к локусам *16sRNA* и *RD4*. Использование этих двух пар праймеров позволяет идентифицировать в пробах ДНК *Mycobacterium* и дифференцировать *M. bovis* от остальных видов рода. Минимальная концентрация ДНК *M. bovis*, при которой продукт амплификации был детектирован электрофоретическим методом после ПЦР, равна не более 10^{-4} нг/мкл.

Ключевые слова: ПЦР-диагностика, микобактерии, видовая дифференциация микобактерий.

Summary. In the paper the results of PCR with *M. bovis* 8 and *M. avium* 1603 DNA and primers to the *16sRNA* and *RD4* loci are given, as well as the diagnosis of tuberculosis in biological material by Kinyoun staining and PCR have been conducted.

PCR with these two pairs of primers makes it possible to identify mycobacterial DNA in samples and to differentiate *M. bovis* from the others species of genus. The minimum concentration of *M. bovis* DNA, at which the amplification product was detected by the electrophoretic method, is no more than 10^{-4} ng/ μ l.

Keywords: PCR-diagnostics, mycobacteria, species differentiation of mycobacteria.

Введение. В Республике Беларусь основным методом диагностики туберкулеза является аллергический метод [1]. Ежегодно в стране проводится более 6 млн аллергических тестов; положительный результат диагностируется у 0,2–0,5 % животных, прошедших исследование [1, 2]. Однако при проведении аллергической диагностики могут возникать неспецифические реакции, если животное инфицировано *M. avium* или другими нетуберкулезными микобактериями [3]. Одним из регламентированных методов по дифференциальной диагностике туберкулеза является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [1].

С помощью молекулярно-генетического метода (ПЦР) обеспечивают более высокую чувствительность и специфичность в отношении микобактерий туберкулеза в сравнении с микроскопическим методом, и более быстрое получение результатов, чем при использовании бактериологического метода. ПЦР позволяет не только обнаружить наличие микобактерий в образце, но и охарактеризовать вид, штамм или даже генотип патогена, определить его устойчивость к противотуберкулезным препаратам [4].

При лабораторной диагностике туберкулеза применяется метод стандартной ПЦР с последующей детекцией ампликонов в агарозном геле, а также ПЦР в режиме реального времени. Во втором случае после каждого цикла амплификации измеряется сигнал флуоресценции от зондов или интеркаляторов. По уровню сигнала можно определить наличие и количество ДНК в пробе, поэтому последующей визуализации с помощью гелеэлектрофореза не требуется [5].

Чувствительность и специфичность ПЦР обеспечивается путем правильного подбора праймеров. Один из наиболее распространенных генов-мишеней, используемых в молекулярно-генетической диагностике туберкулеза, – транспозон *IS6110*. Эта повторяющаяся последовательность, как правило, присутствует только у микобактерий туберкулеза и отсутствует у других микобактерий. Однако этот элемент может быть удален из генома микобактерий, что приводит к ложноотрицательным результатам. Также мишенями выступают гены, кодирующие белки-антигены или связанные с антибиотикоустойчивостью, другие транспозоны (например *IS1081*) и т. д. [6–8].

Несмотря на явные преимущества ПЦР-диагностики, данный метод имеет и ряд ограничений. Основным из них является высокая стоимость реагентов и оборудования для проведения анализа относительно других методов диагностики туберкулеза, что делает его недоступным при необходимости исследований большого количества проб. ПЦР позволяет выявить лишь наличие ДНК патогена в пробе, но не дает информации о степени тяжести заболевания, а также не дает понимание, живой патоген в материале или это лишь его ДНК.

Цель исследований – разработать протокол для дифференциации видов *M. bovis* и *M. avium* методом полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы. В работе использовали лиофилизированные штаммы *M. bovis* № 8 КМИЭВ-9 и *M. avium* 1603 (в концентрации 10 нг/мкл, измерили наноспектрофотометром Implen P330).

Из лиофилизированных культур бактерий и деконтаминированных гранулем и казеозных образований выделили ДНК наборами «Вет-фактор» и «РИБО-преп» соответственно: Для проведения ПЦР использовали две пары праймеров к локусам: 1 – *16sRNA* (1028 пар нуклеотидов (п. н.), специ-

фичному для рода *Mycobacterium* [7], 2 – *RD4* (400 п. н.), специфичному только для *M. bovis* [9, 10]. Последовательности праймеров представлены в табл. 1, протокол ПЦР – в табл. 2.

Таблица 1. Последовательности праймеров

Локус, тип праймера	Последовательность
<i>16sRNA</i> (1028 п. н.)	
<i>16sRNA</i> , прямой	TGCACACAGGCCACAAGGGA
<i>16sRNA</i> , обратный	GAGAGTTTGATCCTGGCTCA
<i>RD4</i> (400 п. н.)	
<i>RD4</i> , прямой	AACGCGACGACCTCATATTC
<i>RD4</i> , обратный	AAGGCGAACAGATTCAGCA

Таблица 2. Протокол ПЦР

Этап	Температура, °С	Время
Денатурация	95	5 мин
Отжиг	68 (<i>16sRNA</i>), 56 (<i>RD4</i>)	1 мин
Элонгация	72	1 мин 30 с
Финальная элонгация	72	5 мин
Количество циклов	35	

Для определения минимальной детектируемой концентрации ДНК сделали серию последовательных десятикратных разведений выделенной ДНК в буфере для элюции из набора «ВетФактор».

Электрофорез проводили в 1,7%-м агарозном геле. Снятие электрофореграмм осуществлялось на Bio-Rad Molecular Imager GelDoc XR+.

Результаты исследований. Использование праймеров к локусу *16sRNA* (рис. 1) позволило определить ДНК *M. bovis* и *M. avium* в пробах (см. рис. 1, дорожки 3, 4). Праймеры к локусу *RD4* дали четкий положительный результат только на ДНК *M. bovis* (см. рис. 2, дорожка 2). Совокупность двух реакций позволила дифференцировать между собой ДНК *M. bovis* и *M. avium*. Неспецифические продукты реакции отсутствовали.

ПЦР с разведениями ДНК позволила установить, что минимальная концентрация ДНК *M. bovis*, при которой продукт амплификации детектировался электрофоретическим методом, составила не более 10^{-4} нг/мкл (см. рис. 2).

Заключение. Использование двух пар праймеров к локусам *16sRNA* и *RD4* позволило идентифицировать в пробах ДНК *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium avium* и провести их дифференциацию. Целесообразно дальнейшее совершенствование условий амплификации и подбор последовательности праймеров для разработки набора по видовой дифференциации микобактерий с целью его использования в ветеринарии при дифференциальной диагностике туберкулеза.

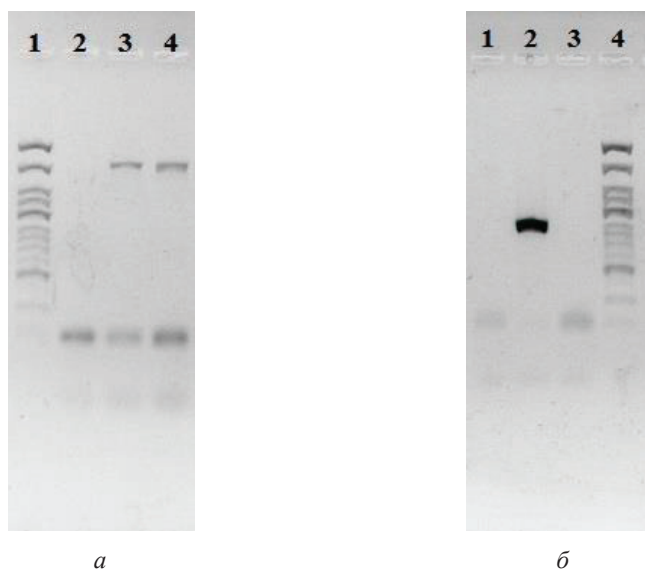


Рис. 1. Определение специфичности праймеров к видам микобактерий (а: 1 – маркер молекулярной массы, 2 – отрицательный контроль выделения, 3 – ДНК *M. bovis* (16sRNA), 4 – ДНК *M. avium* (16sRNA); б: 1 – отрицательный контроль выделения, 2 – ДНК *M. bovis* (RD4), 3 – ДНК *M. avium* (RD4), 4 – маркер молекулярной массы)

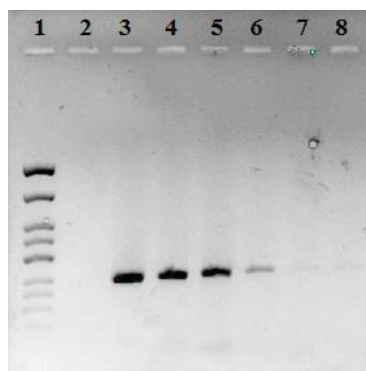


Рис. 2. Определение минимальной детектируемой концентрации ДНК *M. bovis* (1 – маркер молекулярной массы; 2 – отрицательный контроль. Концентрации ДНК, нг/мкл: 3 – 10; 4 – 1, 5 – 0,1; 6 – 0,01; 7 – 0,001; 8 – 0,0001)

Литература и источники

1. *Ветеринарно-санитарные правила* профилактики, диагностики и ликвидации туберкулеза животных [Электронный ресурс] : постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, 23 февр. 2018 г., № 32 // Интернет-портал ветеринарной службы Беларуси. – Режим доступа: <http://gvvet.by/index.php/veterinarnoe-zakonodatelstvo/veterinarno-sanitarnye-pravila-rb/107-vsp-32-2018-tuberkulez>. – Дата доступа: 04.04.2023.

2. Русинович, А. А. О некоторых рисках эпизоотической опасности для Республики Беларусь / А. А. Русинович // Экология и животный мир. – 2022. – № 1. – С. 3–6.
3. Аллергическая активность и специфичность препаратов туберкулина с 30–50 % слабосекретирующихся антигенов микобактерий туберкулеза / А. Н. Притыченко [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2020. – Т. 58, № 4. – С. 472–482.
4. Разнатовская, Е. Н. Молекулярно-генетические методы диагностики и их использование во фтизиатрии / Е. Н. Разнатовская, Г. В. Худяков, Н. А. Грицова // Сучасні медичні технології. – 2016. – № 2. – С. 63–71.
5. Hernandez-Rodriguez, P. Polymerase chain reaction / P. Hernandez-Rodriguez, A. G. Ramirez. – Rijeka : InTech, 2012. – 566 p.
6. Genomic determinants of speciation and spread of the *Mycobacterium tuberculosis* complex / A. Chiner-Oms [et al.] // Science advances. – 2019. – № 5. – P. 1–14.
7. Genomic identification of mycobacteria by nucleic acid sequence determination: report of a 2-year experience in a clinical laboratory / P. Kirschner [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 1993. – Vol. 31. – № 11. – P. 2882–2889.
8. In silico region of difference (RD) analysis of *Mycobacterium tuberculosis* complex from sequence reads using RD-Analyzer / K. Faksri [et al.] // BMC Genomics. – 2016. – № 17. – P. 1–10.
9. Evaluation of molecular markers for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* / M. L. Sales [et al.] // Folia Microbiol. – 2014. – № 59. – P. 433–438.
10. Аникевич, Н. Ю. Молекулярно-генетическая идентификация микобактерий туберкулеза в патологическом материале [Электронный ресурс] / Н. Ю. Аникевич, М. В. Кучвальский, А. Н. Притыченко // Молодые ученые – науке и практике АПК : материалы науч.-практ. конф. аспирантов и молодых ученых, г. Витебск, 27–28 апреля 2023 г. / УО ВГАВМ ; редкол.: Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2023. – С. 370–372.

УДК 619:636:612.015

С. Ю. Зайцев,

доктор биологических наук, доктор химических наук, профессор

О. А. Воронина,

кандидат биологических наук

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Московская область, г/о Подольск, пос. Дубровицы, Российская Федерация

ВЗАИМОСВЯЗЬ РЯДА ПАРАМЕТРОВ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И МЕЖФАЗНОЙ ТЕНЗИОМЕТРИИ КРОВИ СВИНЕЙ

Резюме. Измерение динамического поверхностного натяжения (ДПН) крови свиней, как один из методов межфазной тензиометрии, является одним из самых простых и экологически чистых методов оценки физиолого-биохимических состояний животных. Целью данной работы явилось измерение ДПН и биохимических параметров крови свиней

с последующим изучением корреляционных связей между основными биохимическими и ДПН показателями сыворотки крови помесных свиней в условиях промышленного выращивания. Такие параметры ДПН, как равновесное поверхностное натяжение (eST) и экстраполированный угол наклона (eTA), измеряли с помощью прибора РАТ-1. Получены следующие коэффициенты корреляции между eST и биохимическими показателями на начало (завершение) откорма свиней на: $-0,21$ ($0,01$) с общими липидами, $+0,01$ ($0,02$) с холестерином, $+0,11$ ($+0,13$) с глюкозой, а также между eTA на начало (завершение) откорма свиней и биохимическими показателями: $-0,08$ ($+0,51$) с общими липидами, $-0,05$ ($0,63$) с холестерином, $+0,17$ ($-0,49$) с глюкозой, $+0,24$ ($-0,41$). Полученные данные могут быть полезны для оценки физиолого-биохимических состояний помесей свиней в различных условиях промышленного выращивания.

Ключевые слова: органическое земледелие, свиноводство, гибридизация, устойчивость гибридов свиней, динамическое поверхностное натяжение.

Summary. The measurement of dynamic surface tension (DPN) of pig blood, as one of the methods of interfacial tensiometry, is one of the simplest and environmentally friendly methods for assessing the physiological and biochemical conditions of animals. The aim of this work was to measure DPN and biochemical parameters of pig blood with the subsequent study of correlations between the main biochemical and DPN parameters of blood serum of pigs under industrial breeding conditions. Such DPN parameters as equilibrium surface tension (eST) and extrapolated slope angle (eTA) were measured using RAT-1 device. The following correlation coefficients were obtained between eST and biochemical parameters at the beginning (completion) of pig fattening at: $-0,21$ ($0,01$) with total lipids, $+0,01$ ($0,02$) with cholesterol, $+0,11$ ($+0,13$) with glucose, and between eTA at the beginning (completion) of pig fattening and biochemical indices: $-0,08$ ($+0,51$) with total lipids, $-0,05$ ($0,63$) with cholesterol, $+0,17$ ($-0,49$) with glucose, $+0,24$ ($-0,41$). The obtained data may be useful for evaluating the physiological and biochemical conditions of pig littermates under different conditions of industrial rearing.

Keywords: organic farming, pig breeding, hybridization, stability of pig hybrids, dynamic surface tension.

Введение. «Зеленые» технологии можно рассматривать как универсальные решения, помогающие эргономично управлять ресурсами. В то же время их применение снижает негативную нагрузку на природу. Однако в этой области мало внимания уделяется разработке некоторых альтернативных методов проведения биохимического анализа в животноводстве. Биохимический анализ широко используется во многих областях сельского хозяйства, например, как метод контроля за здоровьем животных [1–4]. Это достаточно трудоемкая технология, требующая специализированного дорогостоящего оборудования и специальных наборов для определения каждого отдельного показателя (таких показателей более 30). С другой стороны, существует ряд альтернативных методов оценки физиолого-биохимического статуса (ФБС) человека и животных при различных физиологических состояниях [1–4].

Общеизвестно, что большинство этих методов являются практически такими же традиционными биохимическими методами, которые давно разработаны и используются до сих пор [3, 4]. Около пятидесяти лет тща-

тельно изучались измерения динамического поверхностного натяжения (ДПН) различных биологических жидкостей и разрабатывались автоматические устройства с использованием основных физико-химических подходов [1–4]. Измерения ДПН успешно применялись для оценки ФБС у здоровых людей около 30 лет [1, 2]. Первые работы некоторых международных групп по ДПН измерений биологических жидкостей человека (кровь, моча и др.) обобщены в нескольких обзорах и книгах [1]. Эти исследования проводили на здоровых мужчинах и женщинах разного возраста, а также на больных с некоторыми заболеваниями [2]. С тех пор в этих направлениях было выполнено много исследований, но здесь мы могли бы обсудить только недавние [5–8]. Был разработан и изготовлен относительно «простой и недорогой прибор» для измерения ДПН крови «методом подвешенной капли» [5]. Используя этот инструмент, значение ДПН крови человека «выводится с использованием метода коэффициента формы капли и метода анализа изображений в различных экспериментальных условиях» [5]. Интересно, что значения ДПН образцов крови здоровых людей сильно коррелируют с температурой этих образцов [5], что хорошо согласуется с литературными данными [1, 2]. Интересно, что значения ДПН «женской крови» заметно отличались от значений «мужской крови» [5]. Примечательно, что было обнаружено лишь незначительное влияние возраста пациентов на значения ДПН. В результате проведения этого исследования [5] были подтверждены справочные данные ДПН образцов крови при различных состояниях, которые были обнаружены ранее [1, 2]. Дальнейшим развитием в области ДПН можно считать разработку «микрожидкостной системы для скрининга заболеваний на основе физических свойств крови» [6]. Некоторые польские ученые [4] не обнаружили выраженной разницы в значениях ДПН между образцами крови, взятыми у здоровых мужчин и женщин. Это кажется контрастным в сравнении с предыдущими выводами [1–4]. Более того, эти авторы указали на «отсутствие корреляции между вязкостью и поверхностным натяжением крови при 37 °C» [4].

В последнее время группа (под руководством профессора С. Ю. Зайцева [4, 7–9]) использовала измерения ДПН некоторых биологических жидкостей (кровь, молоко и др.) различных животных для оценки их PBS. К началу нашей работы [7] отсутствовали исчерпывающие данные о ДПН крови животных и их связи с важнейшими биохимическими показателями. В области науки и практики сельскохозяйственных животных при исследовании ДПН можно получить важную информацию о ФБС этих организмов, а также об общем наблюдении за животными, особенно в крупных хозяйствах и т. д. Несмотря на большой объем накопленного материала по изучению ДПН в области биомедицины, до сих пор практически никто не рассматривает этот метод как достойную экологическую альтернативу

полноценному биохимическому анализу. При этом метод ДПН не требует никаких химических реагентов и вредных материалов, кроме достаточно простого прибора и дистиллированной воды.

Целью данной работы явилось измерение ДПН и биохимических параметров крови свиней и изучение корреляционных связей между основными биохимическими и ДПН показателями сыворотки крови помесных свиней в условиях промышленного выращивания, а также оценка предлагаемого метода ДПН как экологической альтернативы биохимическому анализу.

Материалы и методы. Образцы, состоящие из сыворотки крови 43 гибридных свиней (дюрок, ландрас, крупная белая), были взяты из ушной вены здоровых животных и собраны во время постановки и снятия с откорма. Все протоколы соответствовали правовым и этическим нормам и требованиям к содержанию животных, используемых в научных исследованиях, утвержденных Комиссией по биоэтике ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л. К. Эрнста. Измерения основных биохимических показателей крови гибридов свиней проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Chem Well» («Awareness Technology», США) с использованием реактивов фирм «Spinreact» (Испания), «Analyticon» (Германия) и «Diacor» (Россия) по стандартным методикам, опубликованным в [4]. Были получены следующие биохимические показатели [10]: общие липиды (ОЛ), холестерин (Хол.), глюкоза. Измерение параметров ДПН [4]: равновесное поверхностное натяжение (eST) и экстраполированный угол наклона (eTA) проводили с помощью прибора PAT-1 (ФРГ) и рассчитывали по «тензиограммам» с помощью «программы ADSA» [2].

Результаты исследований. В качестве основных параметров ДПН при постановке и выводе точек откорма свиней авторы выбрали равновесное поверхностное натяжение (eST) и экстраполированный угол наклона (eTA), что было выполнено впервые. Измеряли отдельные биохимические показатели сыворотки крови гибридных свиней: общие липиды, холестерин, глюкозу. В этих показателях были отражены основные пути метаболизма липидов и углеводов [1, 10]. Эти данные являются наиболее важными для оценки ФБС животных в период их роста и откорма, особенно для стран с интенсивным свиноводством, таких как Россия. В наших предыдущих исследованиях [4, 9] было обнаружено, что концентрации различных белков, липидов и минералов были наиболее значимы для оценки параметров ДПН сыворотки крови животных.

Впервые получены основные биохимические показатели, а также следующие параметры ДПН (такие как eST и eTA) крови помесных свиней на момент откорма (табл. 1).

Таблица 1. Основные биохимические показатели и показатели сыворотки крови с дисплазией соединительной ткани помесных свиней ($n = 30$) на момент постановки их на откорм

Общие липиды, мМ	Холестерин, мМ	Глюкоза, мМ	eST, мН/м	eTA, мН/м·с ^{-1/2}
5,46	2,60	2,61	43,24	13,37
5,26	2,69	3,92	45,21	17,45
4,73	2,69	4,27	44,14	16,73
5,25	2,72	2,01	44,23	17,24
4,65	2,40	2,70	45,18	-4,11
4,76	2,40	3,01	44,69	17,93
5,19	2,72	5,43	45,06	18,97
4,37	2,40	5,36	45,59	35,54
5,46	2,51	4,63	42,73	12,81
5,26	2,88	4,36	42,98	3,08
6,54	3,20	3,69	43,83	15,62
4,77	2,35	2,40	42,31	12,12
5,42	2,49	2,75	43,46	13,75
5,02	2,20	3,72	44,88	16,21
4,20	1,53	2,11	43,65	12,63
4,51	2,09	3,79	44,27	9,86
6,69	3,73	4,89	44,07	12,32
5,70	2,86	3,72	43,80	10,69
6,27	3,15	5,40	44,31	12,04
5,73	2,57	2,51	43,57	15,35
5,47	2,46	4,43	42,87	19,24
5,09	2,67	3,18	45,17	7,33
5,25	2,78	4,49	44,56	12,69
4,39	2,01	3,92	44,59	11,01
5,30	2,51	5,03	42,18	8,82
5,17	2,49	4,32	44,68	10,78
5,98	2,88	5,60	44,09	11,01
4,58	2,30	5,20	43,94	12,22
5,70	3,04	5,16	44,50	10,37
5,64	2,78	5,26	43,56	11,69

Средние значения eST и eTA (табл. 1) сыворотки крови на момент постановки на откорм помесных свиней составили: $44,04 \pm 0,16$ мН/м и $13,16 \pm 1,16$ мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно. Интересно, что стандартные отклонения данных eST и eTA были следующими: 0,88 мН/м и 6,33 мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно. Последние значения имели следующее значение: низкое стандартное отклонение в случае eST указывало на то, что значения имеют тенденцию быть близкими к средним данным eST (также называемым «ожидаемым значением») набора, в то время как при высоком стандартном отклонении в случае eST случай eTA показал, что эти значения распространяются в более широком диапазоне. Авторы рекомендовали использовать

данные eST и eTA (см. табл. 1) в диапазоне 42–46 мН/м и 10–30 мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно в качестве эталона для оценки сыворотки крови в контрольной точке гибридных свиней на откорме.

Средние значения (см. табл. 1) следующих биохимических показателей сыворотки крови на момент постановки на откорм помесных свиней составили: 5,26 ± 0,11 мМ – по общим липидам; 2,60 ± 0,07 мМ – холестерина, 4,00 ± 0,20 мМ – глюкозы соответственно. Полученные данные согласуются с найденными литературными данными для этих животных [4, 9]. Эти средние значения основных биохимических параметров были использованы для корреляционного анализа с полученными данными eST и eTA, представленными ниже.

Впервые получены основные биохимические и ДПН показатели крови помесных свиней (табл. 2) на момент снятия с откорма.

Таблица 2. Основные биохимические и ДПН показатели сыворотки крови помесных свиней (n = 13) на момент снятия с откорма

Общие липиды, мМ	Холестерин, мМ	Глюкоза, мМ	eST, мН/м	eTA, мН/м·с ^{-1/2}
5,37	2,98	2,68	45,45	15,61
6,57	3,14	3,26	42,51	19,31
5,65	3,14	3,80	43,74	21,29
6,31	2,89	2,86	43,12	12,69
5,28	2,18	2,64	44,39	10,85
6,93	3,14	4,27	44,06	20,39
4,39	2,16	2,79	42,73	5,98
5,14	2,76	2,24	43,61	5,70
4,73	2,54	2,75	43,75	18,55
4,51	2,56	2,10	42,86	10,24
4,48	2,27	2,28	43,88	13,55
4,57	2,40	1,77	43,95	13,38
5,10	2,74	1,88	42,48	19,63

Средние значения eST и eTA (табл. 2) сыворотки крови на момент откорма помесных свиней составили: 43,58 ± 0,23 мН/м и 14,40 ± 1,46 мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно. Эти значения eST и eTA находились в диапазоне справочных данных для оценки сыворотки крови гибридных свиней на откорме. Интересно, что стандартные отклонения данных eST и eTA были следующими: 0,84 мН/м и 5,28 мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно. Как мы обсуждали выше, низкое значение стандартного отклонения в случае eST указывало на то, что значения «набираются» близко к среднему значению eST набора, в то время как высокое стандартное отклонение в случае eTA указывало на то, что значения относительно далеки от «ожидаемого значения eTA» [4].

Средние значения (см. табл. 2) следующих биохимических показателей сыворотки крови на выводном пункте откорма помесных свиней состави-

ли: $5,31 \pm 0,23$ мМ – по общим липидам, $2,68 \pm 0,10$ мМ – холестерина, $2,72 \pm 0,19$ мМ – глюкозы соответственно. Полученные данные согласуются с найденными литературными данными для этих животных [4, 9]. Эти средние значения основных биохимических параметров были использованы для корреляционного анализа с полученными данными eST и eTA.

Важно отметить, что общие показатели содержания липидов были почти одинаковыми в каждом из этих случаев. Таким образом, выраженные изменения показателей eST и eTA на этих двух точках откорма свиней в основном были обусловлены изменениями содержания «общих липидов» сыворотки крови свиней. Эти средние значения основных биохимических параметров были использованы для корреляционного анализа с полученными данными eST и eTA ниже.

Получены наиболее значимые корреляционные связи между eST (на момент постановки свиней на откорм) и биохимическими показателями: $-0,21$ по общим липидам, $+0,11$ по глюкозе (см. табл. 1). Важно отметить, что между холестерином и eST выявлена лишь крайне слабая корреляция $+0,01$ (см. табл. 1). Напротив, между показателями eTA (на момент снятия свиней с откорма) и другими изучаемыми биохимическими показателями были обнаружены в основном слабые корреляционные связи: $-0,08$ с общими липидами, $-0,05$ с холестерином, и несколько выше ($+0,11$) с глюкозой (см. табл. 1). Такая тенденция свидетельствовала о стабилизации ФБС свиней в процессе их роста и откорма, что может быть полезно для оценки продуктивности свиней, питания и т. д.

Важно было сравнить корреляционные связи между тестированием лекарственной чувствительности (ТЛЧ) и биохимическими показателями сыворотки крови помесных свиней на завершающем этапе (на момент снятия свиней с откорма) и в дальнейшем сравнивать их с таковыми при постановке на откорм.

Получены следующие корреляции между eST (на момент снятия свиней с откорма) и биохимическими показателями: $+0,01$ с общими липидами, $+0,02$ с холестерином, $+0,11$ с глюкозой (см. табл. 2). Напротив, были получены многочисленные значимые корреляции между параметрами eTA (на момент снятия свиней с откорма) и биохимическими показателями: $+0,51$ по общим липидам, $+0,63$ по холестерину, $-0,49$ по глюкозе. Эти корреляции подтверждают общие сведения о стабилизации метаболических путей свиней во время их роста [1]. Полученные тенденции свидетельствовали о важности обоих параметров ДПН (eST и eTA) в оценке ФБС статуса свиней в процессе их откорма.

Заключение. Таким образом, впервые получены все показатели ДПН сыворотки крови помесных свиней. Следующие параметры eST и eTA были рекомендованы в качестве «референтных» значений для практики

на животных: 42–46 мН/м и 10–30 мН·м⁻¹·с^{-1/2} соответственно. Получены следующие коэффициенты корреляции между σ_{ST} и биохимическими показателями на начало (завершение) откорма свиней на: –0,21 (0,01) с общими липидами, +0,01 (0,02) с холестерином, +0,11 (+0,13) с глюкозой, а также между σ_{TA} на начало (завершение) откорма свиней и биохимическими показателями: –0,08 (+0,51) с общими липидами, –0,05 (0,63) с холестерином, +0,17 (–0,49) с глюкозой, +0,24 (–0,41). Такая тенденция свидетельствует о стабилизации ФБС статуса свиней в период завершения откорма, а также о разумном дополнении к стандартному биохимическому анализу. Авторы рекомендуют расширить использование метода ДПН в дополнение к классическим методам биохимического анализа, так как метод ДПН не требует химических реагентов и вредных материалов в отличие от биохимического анализа.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-16-00032-П). Авторы выражают благодарность А. А. Белоусу за сбор проб и Р. А. Рыкову за техническую помощь.

Литература

1. Зайцев, С. Ю. Биологическая химия: от биологически активных веществ до органов и тканей животных / С. Ю. Зайцев. – М. : ЗАО «Капитал Принт», 2017. – 517 с.
2. *Dynamic surface tension of biological liquids in medicine* / V. N. Kazakov [et al.] // *Studies in Interface Science*. – 2000. – P. 34–56.
3. Zaitsev, S. Yu. Dynamic surface tension measurements as general approach to the analysis of animal blood plasma and serum / S. Yu. Zaitsev // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2016. – Vol. 235. – P. 201–213.
4. Зайцев, С. Ю. Тензиометрический и биохимический анализ крови животных: фундаментальные и прикладные аспекты / С. Ю. Зайцев. – М. : «Сельскохозяйственные технологии», 2016. – 192 с.
5. *Surface tension measurement of normal human blood samples by pendant drop method* / S. S. Yadav [et al.] // *J. Med. Eng. Technol.* – 2020. – Vol. 44. – № 5. – P. 227–236.
6. *Microfluidic system for screening disease based on physical properties of blood* / S. S. Yadav [et al.] // *Bioimpacts*. – 2020. – Vol. 10. – № 3. – P. 141–150.
7. *Dynamic tensiometry as express-method for horse blood diagnostics*. / S. Yu. Zaitsev [et al.] // *International Journal of Medical and Biological Frontiers*. – 2011. – Vol. 17. – № 4–5. – P. 377–384.
8. Zaitsev, S. Yu. Interfacial tensiometry method for the analysis of model systems in comparison with blood as the most important biological liquid. / S. Yu. Zaitsev // *Moscow University Chemistry Bulletin*. – 2016. – Vol. 71. – № 3. – P. 205–208.
9. Zaitsev, S. Yu. Biochemical parameters, dynamic tensiometry and circulating nucleic acids for cattle blood analysis: a review / S. Yu. Zaitsev [et al.] // *PeerJ*. – 2020. – № 8. – P. 1–24.

А. О. Кротова,

аспирант, ведущий биолог

А. В. Спрыгин,

доктор биологических наук

Али Мазлум,

кандидат биологических наук

К. А. Шалина,

ведущий ветеринарный врач

П. В. Прутников,

ведущий ветеринарный врач

О. П. Бьядовская,

кандидат биологических наук

*Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»),
г. Владимир, Российская Федерация*

ПЦР С АНАЛИЗОМ КРИВЫХ ПЛАВЛЕНИЯ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ВАКЦИННОГО ШТАММА «НИСХИ» И ПОЛЕВЫХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ОСПЫ ОВЕЦ

Резюме. Эффективная стратегия контроля и искоренения оспы овец (ОО) включает использование живых аттенуированных вакцин, что, в свою очередь, требует наличия в лабораторной практике метода дифференциации вакцинного вируса от полевых изолятов. Живая аттенуированная вакцина против оспы овец из штамма «НИСХИ» широко используется в России, Казахстане и других странах Центральной Азии. В данном исследовании представлена разработка и валидация методики ПЦР в реальном времени с анализом кривых плавления с высоким разрешением (HRM-анализ), которая способна дифференцировать вакцинный штамм «НИСХИ» оспы овец от циркулирующих вирулентных полевых изолятов. При конструировании праймеров для HRM-анализа использовали последовательность гена субъединицы РНК-полимеразы RPO132, содержащую уникальный однонуклеотидный полиморфизм (ОНП). При тестировании образцов температура плавления (T_m) ампликонов полевых изолятов варьировала от $(75,47 \pm 0,04)^\circ\text{C}$ до $(75,86 \pm 0,08)^\circ\text{C}$, в то время как для вакцинного штамма T_m составила $(76,46 \pm 0,12)^\circ\text{C}$. Разница между значениями статистически достоверна ($n < 0,05$). Экспериментально доказано, что

разработанный метод ПЦР специфично выявляет геном вакцинного штамма «НИСХИ» ОО при анализе образцов биоматериала от инфицированных овец.

Ключевые слова: вирус оспы овец, вакцина, ПЦР, последовательности, анализ кривых плавления с высоким разрешением (HRM-анализ).

Summary. An effective strategy for the control and eradication of sheep pox (OO) includes the use of live attenuated vaccines, which, in turn, requires the presence in laboratory practice of a method for differentiating the vaccine virus from field isolates. Live attenuated sheep pox vaccine from the nishi strain is widely used in Russia, Kazakhstan and other Central Asian countries. This study presents the development and validation of a real-time PCR technique with analysis of high-resolution melting curves (HRM-analysis), which is able to differentiate the vaccine strain «NISHI» of sheep pox from circulating virulent field isolates. When designing primers for HRM-analysis, the RPO132 RNA polymerase subunit gene sequence containing a unique single nucleotide polymorphism (ONP) was used. When testing samples, the melting point (T_m) of amplicons of field isolates varied from $(75,47 \pm 0,04)^\circ\text{C}$ to $(75,86 \pm 0,08)^\circ\text{C}$, while for the vaccine strain T_m was $(76,46 \pm 0,12)^\circ\text{C}$. The difference between the values is statistically significant ($n < 0,05$) it has been experimentally proven that the developed PCR specifically detects the genome of the vaccine strain «NISHI» OO when analyzing biomaterial samples from infected sheep.

Keywords: sheep pox virus; vaccine; PCR; sequences; HRM (High Resolution Melting).

Введение. Вирус оспы овец (SPPV) – этиологический агент экономически значимого заболевания – оспы овец, регистрируемого Всемирной организацией здоровья животных (ВОЗЖ, WOAH) с последующим наложением длительного карантина и вакцинацией. Возбудитель данного заболевания принадлежит к роду *Capripoxvirus* [1], к которому также относится вирус заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота (ЗУД КРС, LSDV) и вирус оспы коз (GTPV). Геном SPPV составляет приблизительно 150 килобаз (kbp) со 147 открытыми рамками считывания и демонстрирует 96 % нуклеотидной идентичности с вирусом оспы коз и 97 % с вирусом ЗУД КРС [1]. LSDV преимущественно поражает крупный рогатый скот и буйволов, в то время как SPPV и GTPV заражает овец и коз [2].

Оспа овец наносит значительный экономический ущерб животноводству из-за тяжелых клинических признаков, высокой смертности и снижения доходов от экспорта [3]. Клинические признаки оспы овец включают конъюнктивит, ринит и поражения кожи на морде и других участках, лишенных шерсти [4]. Возбудитель передается при прямом контакте с инфицированным животным [5].

Географическое распространение оспы овец наблюдается преимущественно в регионах с интенсивным овцеводством. К эндемичным регионам по этому заболеванию относятся Ближний Восток, Северная Африка, Индийский субконтинент, крупные регионы Центральной Азии, Турция, Ирак, Иран, Афганистан и Юго-Восточная Европа [4]. Недавно вспышки были зарегистрированы в Казахстане, Монголии, Азербайджане, Турции, Греции, Болгарии и России, где спорадические случаи были зарегистриро-

ваны на Дальнем Востоке и Кавказе. С 2016 г. частота вспышек за пределами эндемичных регионов, в центральной части РФ, резко возросла, но научно доказанных объяснений пока не получено.

Вакцины SPPV и GTPV могут быть использованы у крупного рогатого скота в качестве гетерологичной вакцины против ЗУД КРС, безопасность и эффективность этих вакцин доказаны в контролируемых экспериментальных исследованиях [6]. В странах, неблагополучных по оспе овец, вакцинация гомологичной вакциной против SPPV является эффективной стратегией в борьбе с распространением болезни. Однако использование живых аттенуированных вакцин требует применения специализированных методов для дифференциации инфицированных и вакцинированных животных, что критично в случае подозрения для недопущения распространения болезни. В отсутствие серологических анализов, способных дифференцировать антитела от живых вакцин SPPV и дикого типа, разрабатываются молекулярные анализы, но их применение сдерживается недостатком геномных данных о циркулирующих полевых изолятах [7].

Коммерческие живые аттенуированные вакцины на основе различных штаммов доступны во всем мире. Югославский штамм «RM65» оспы овец широко используется на Ближнем Востоке, в Азии и на Африканском континенте, а румынский штамм «Fanar» – в Индии и странах Магриба [8]. В отличие от этого, Российская Федерация и страны бывшего Советского Союза используют штамм «НИСХИ» оспы овец в кампаниях по вакцинации [9].

В доступной литературе опубликована работа, в которой описывается ПЦР для дифференциации штаммов «RM/65» от вирулентных полевых изолятов SPPV. Однако в отношении штамма «НИСХИ» не существует аналогичного анализа, способного отличить широко используемый в России и Средней Азии вакцинный штамм «НИСХИ» от вирулентных изолятов оспы овец.

Также был разработан метод для дифференциации используемых в России и странах СНГ вакцинных штаммов вируса оспы овец от эпизоотических изолятов, основанный на рестрикционном анализе амплифицированного в ПЦР фрагмента гена белка «ankyrin-repeat» [10]. Однако не существует анализа, способного отличить широко используемый в России и Азии вакцинный штамм «НИСХИ» от вирулентных SPPV дикого типа в режиме реального времени. В связи с этим целью данного исследования являлась разработка и валидация методики на основе ПЦР-РВ с HRM-анализом, способной дифференцировать вакцинный штамм «НИСХИ» оспы овец от вирулентных изолятов вируса оспы овец дикого типа.

Материалы и методы. Образцы и вирусы. Восемь вирулентных штаммов SPPV, выделенных со вспышек в РФ, были использованы для разработки анализа ПЦР в реальном времени в дополнение к вакцинному штамму «НИСХИ» (табл. 1).

**Таблица 1. Краткое описание последовательностей вируса оспы овец,
использованных в данном исследовании**

Изолят/штамм	Регион	Год изоляции	Тип материала	GenBank, регистрационный номер
«Амур»	Амурская обл.	2018/24.12.2021	Стружья	Не представлен
«Москва 2018» (M18)	Московская обл.	2018	То же	ON961655
«Тула»	Тульская обл.	2018	—»—	ON961657
«Псков»	Псковская обл.	2019	—»—	Не представлен
«Москва 2019» (M19)	Московская обл.	2019	—»—	ON961656
«Тверь»	Тверская обл.	2019	—»—	Не представлен
«Калуга»	Калужская обл.	2020	—»—	Не представлен
«Дагестан»	Республика Дагестан	2022	—»—	Не представлен
«ВНИИЗЖ»	«НИСХИ»	1996	Культура клеток	AY077834

Новый разработанный HRM-анализ на основе ПЦР в реальном времени был валидирован при исследовании 55 полевых образцов биоматериала, полученных при вспышках оспы овец и направленных в Федеральный центр охраны здоровья животных (г. Владимир, Россия) для лабораторного исследования.

Выделение ДНК. Вирусную ДНК выделяли в соответствии с протоколом экстракции фенол-хлороформом, опубликованным ранее (Sambrook and Russell, 2002).

Дизайн праймера и протокол ПЦР-РВ. При поиске локуса в гене, кодирующем субъединицу РНК-полимеразы *RPO132*, был идентифицирован уникальный однонуклеотидный полиморфизм (SNP) в положении 109536 генома штамма «НИСХИ», способный различать вирулентные штаммы оспы овец дикого типа и вакцинный штамм «НИСХИ» (см. табл. 1; рис. 1). Набор праймеров был создан для амплификации этой области, включая вышеупомянутый SNP (рис. 1). Праймеры были разработаны с использованием «CLC Qiagen Workbench v. 21» для амплификации области 109 п. н. Последовательности праймеров и дополнительные характеристики представлены в табл. 2, а их положения связывания по отношению к различным изолятам указаны на рис. 1.

Для проведения исследования готовили реакционную смесь, исходя из расчета на одну реакцию 15 мкл: по 1,0 мкл прямого и обратного праймеров в конечной концентрации 0,5 мкмоль каждого праймера, 10,0 мкл 2X мастера-микса «SsoFast EvaGreen» и 3,0 мкл воды свободной от нуклеаз. В пробирки объемом 0,2 мл вносят по 15 мкл приготовленной смеси. Далее в каждую отдельную пробирку добавляют 5,0 мкл ДНК-матрицы. Общий объем смеси должен составлять 20,0 мкл.

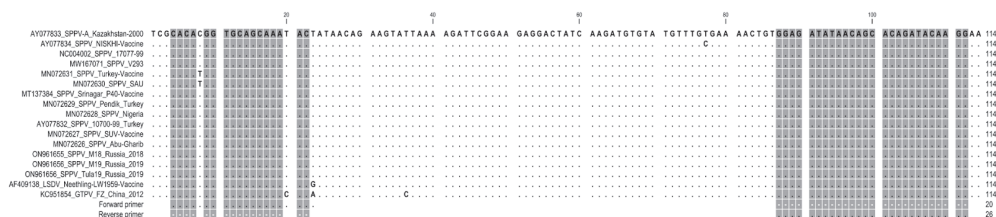


Рис. 1. Сопоставление специфических праймеров с различными изолятами SPPV, LSDV «Neethling» и GTPV «China 2012»

Таблица 2. Характеристики праймеров, разработанных для анализа HRM

Праймер	Последовательность (5'→3')	Вычисленная T_m , °C	Длина
Прямой праймер	CACACGGTGCAGCAAATACT	60,6	20
Обратный праймер	CCTTGTATCTGTGCTGTTATATCTCC	59,6	26

ПЦР проводили в термоциклере «Rotor-Gene Q5 plex HRM» с использованием коммерческого набора «SsoFast™ EvaGreen® Supermix» с начальной стадией денатурации при 98 °C в течение 2 мин, с последующими 40 циклами при 95 °C в течение 5 с, 60 °C в течение 20 с. Затем продукт ПЦР денатурировали при 95 °C в течение 30 с, охлаждали до 65 °C в течение 60 с и плавили от 65 до 90 °C повышением температуры на 0,1 °C каждые 2 с при непрерывном сборе данных. Графики амплификации и графики плавления анализировали с использованием программного обеспечения «Rotor-Gene Q5».

Оценка предела обнаружения. Для определения предела обнаружения нового разработанного HRM-анализа использовали 10-кратное последовательное серийное разведение ДНК вакцинного штамма «НИСХИ» оспы овец. Количество вируса выражалось в ТЦД₅₀/мл и составляло 6,4 lg ТЦД₅₀/мл. Разведения тестировались в трех повторностях, и последнее положительное 10-кратное разведение затем разводилось в 2 раза для определения предела обнаружения.

Оценка метода для детекции коинфекции. Для определения способности метода дифференцировать коинфицированные образцы (вакцинный штамм и полевой изолят) были приготовлены различные комбинации разведенных и неразведенных образцов ДНК изолята оспы овец «Тула» (см. табл. 1) и вакцинного штамма «НИСХИ».

Статистический анализ. Каждую реакцию HRM проводили в трех повторностях, а результаты использовали для проведения статистического анализа и расчета среднего значения и стандартного отклонения (SD), и точного критерия Фишера при 95%-м доверительном интервале при достоверности $p \leq 0,05$ в программе «Statistica» (версия 10.0).

Результаты исследования дизайн-анализа. Полную последовательность генома оспы овец штамма «НИСХИ» сравнивали со всеми доступными последовательностями в Genbank, представляющими изоляты из Российской Федерации, Ближнего Востока и Северной Африки. Ген субъединицы РНК-полимеразы *PRO132* был выбран на основании уникального SNP в качестве области-мишени при разработке и амплификации ампликона размером 109 п. н. Выравнивание последовательности фланкированной праймерами показало уникальную замену «Т» на «С» у вакцинного штамма «НИСХИ» оспы овец по сравнению с изолятами дикого типа (см. рис. 1).

Разработанный HRM-анализ оценивали с использованием серии разведений ДНК из изолятов, перечисленных в табл. 1. Рассчитанные средние температуры плавления, полученные в результате трех повторных реакций каждого из SPP-положительных образцов, указаны в табл. 3.

Таблица 3. Тестирование в ПЦР-РВ-HRM ДНК, выделенной из полевых изолятов SPPV и вакцинного штамма «НИСХИ»

Изолят/ штамм	Оригиналь- ный обра- зец (M/SD)	Разведение				GM/SD	
		10 ⁻¹ (M/SD)	10 ⁻² (M/SD)	10 ⁻³ (M/SD)	10 ⁻⁴ (M/SD)	для каждо- го изолята	общее
«НИСХИ»/ ВНИИЗЖ	76,44 ± 0,07	76,57 ± 0,11	76,66 ± 0,2	76,41 ± 0,02	76,225 ± 0,21	76,46 ± 0,12	76,46 ± 0,12
«Амур»	75,44 ± 0,04	75,79 ± 0,04	75,77 ± 0,02	75,62 ± 0,04	75,43 ± 0,096	75,61 ± 0,05	75,65 ± 0,04
«Псков»	75,81 ± 0,01	75,78 ± 0,02	75,75 ± 0,02	75,63 ± 0,04	75,41 ± 0,06	75,68 ± 0,03	
«Калуга»	75,71 ± 0,01	75,69 ± 0,02	75,65 ± 0,05	75,59 ± 0,01	НО	75,66 ± 0,02	
«Тула»	75,32 ± 0,03	75,67 ± 0,03	75,62 ± 0,07	75,57 ± 0,03	75,18 ± 0,09	75,47 ± 0,04	
«М19»	75,74 ± 0,04	75,68 ± 0,02	75,67 ± 0,02	75,59 ± 0,03	75,51 ± 0,01	75,64 ± 0,02	
«Тверь»	75,66 ± 0,05	75,72 ± 0,03	75,73 ± 0,04	75,57 ± 0,04	75,56 ± 0,02	75,65 ± 0,04	
«Дагестан»	75,5 ± 0,07	75,79 ± 0,04	75,84 ± 0,04	75,68 ± 0,04	75,62 ± 0,09	75,69 ± 0,06	
«М18»	75,89 ± 0,1	75,9 ± 0,07	75,88 ± 0,08	75,78 ± 0,06	НО	75,86 ± 0,08	

Анализ кривых плавления с высоким разрешением (анализ HRM) (табл. 3), направленный на дифференциацию полевых изолятов оспы овец от вакцинного штамма «НИСХИ», показал, что средняя температура плавления проб ДНК, выделенных из полевых изолятов вируса оспы овец, колеблется от (75,47 ± 0,04) °С до (75,86 ± 0,08) °С, в то время как средняя температура плавления образцов ДНК вакцинного штамма составляет (76,46 ± 0,12) °С (*p* < 0,05) (рис. 2).

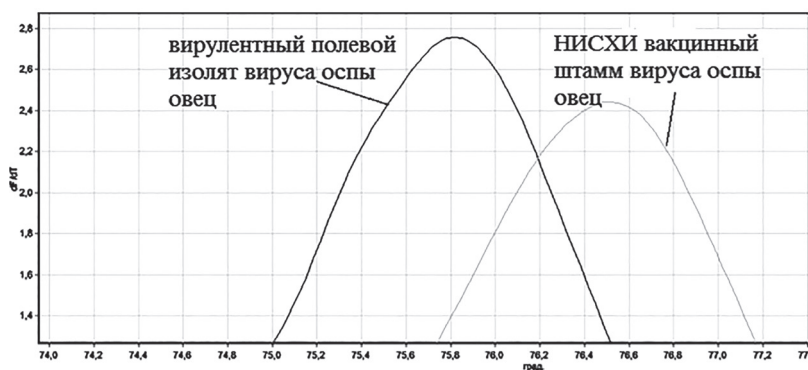


Рис. 2. Различие кривой плавления для полевых изолятов вируса оспы овец и вакцинного штамма «НИСХИ»

Различия в температуре плавления и кривых между образцами ДНК от полевых изолятов и вакцинного штамма «НИСХИ» показаны на рис. 2. На основании кривых плавления наблюдалась четкая дифференциация в (1,0–0,8) °C ($p < 0,05$) между вирулентными полевыми изолятами и вакцинным штаммом «НИСХИ» оспы овец.

Для определения способности дифференциации ДНК вакцинного и полевого изолятов в одном образце (коинфекция) была приготовлена комбинация разведенных и неразведенных образцов, содержащих ДНК изолята оспы овец «Тула» и вакцинного штамма «НИСХИ»/«ВНИИЗЖ». Десять комбинаций смеси: «дикий тип – вакцина» были подготовлены в трех экземплярах и протестированы, при этом оптимальная температура плавления была представлена как среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD) для трех повторов (табл. 4).

Таблица 4. Тестирование коинфицированных образцов методом ПЦР-РВ-НМ

Полевой изолят (постоянный)/ вакцинный штамм (вариабельный)	M/SD		Вакцинный штамм (постоянный)/полевой изолят (вариабельный)	M/SD	
	полевой изолят постоянный	вакцинный штамм в разведении		вакцинный штамм постоянный	полевой изолят в разведении
1:1	75,64/0,14	76,17/0,08	1:1	76,4/0,04	75,61/0,03
1:10 ⁻¹	75,58/0,01	Отр.	1:10 ⁻¹	76,43/0,01	Отр.
1:10 ⁻²	75,52/0,12	Отр.	1:10 ⁻²	76,27/0,03	Отр.
1:10 ⁻³	75,4/0,03	Отр.	1:10 ⁻³	76,08/0,06	Отр.
1:10 ⁻⁴	75,43/0,07	Отр.	1:10 ⁻⁴	76,71/0,01	Отр.

Результаты представлены на основе постоянной концентрации полевого изолята в различных разведениях вакцинного штамма, за которыми следует постоянная концентрация вакцинного штамма в различных раз-

ведениях полевой геномной ДНК (см. табл. 4). Данные, представленные в табл. 4, демонстрируют способность разработанной методики на основе ПЦР-РВ-HRM-анализа выявлять матрицы ДНК, выделенной как из вируса оспы овец дикого типа, так и из вакцинного вируса в одной реакции. Было выявлено, что обе мишени амплифицируются, если они присутствуют в равных концентрациях. Если концентрации между двумя мишенями различаются более чем в 10 раз, более концентрированная мишень подавляет другую (см. табл. 4).

При оценке чувствительности, предел обнаружения тест-системы составил $0,7 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$.

Тестирование полевых образцов с помощью ПЦР-РВ-HRM-анализа. Тестирование проводили с 55 образцами биоматериала, полученного от животных, при вспышках оспы овец на территории РФ. Было установлено, что из 55 образцов биоматериала 47 образцов (85,4 %) были положительными в ПЦР-РВ-HRM и все они относились к дикому типу, таким образом исключая наличие ДНК вакцинного штамма «НИСХИ». Оптимальная температура плавления ДНК, выделенной из образцов полевых изолятов вируса оспы овец, группировалась в пределах установленного ранее диапазона (от $75,47 \pm 0,04$ °C до $75,86 \pm 0,08$ °C, результаты не представлены). Остальные восемь образцов биоматериала были подтверждены как отрицательные на SPPV путем дополнительного проведения ПЦР-теста, рекомендованного Всемирной организацией здравоохранения животных.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования была разработана методика проведения ПЦР с применением HRM-анализа кривых плавления ДНК, выделенной из образцов биоматериала, которая позволяет дифференцировать вакцинный штамм «НИСХИ» от других изолятов вируса оспы овец. Разработанная методика на основе ПЦР-РВ-HRM-анализа является хорошим дополнением к диагностическим программам, направленным на контроль и ликвидацию оспы овец, с возможностью дифференциации аттенуированного вакцинного штамма «НИСХИ» вируса оспы овец и полевых изолятов вируса.

Литература и источники

1. *Tulman, E. R.* The genomes of sheeppox and goatpox viruses / E. R. Tulman [et al.] // J Virol. – 2002. – № 76 (12). – P. 6054–61. doi:10.1128/jvi.76.12.6054-6061.2002. PMID:12021338. PMCID:PMC136203
2. *Review: Capripoxvirus Diseases : Current Status and Opportunities for Control* / E. S. M. Tuppurainen [et al.] // Transbound Emerg Dis. – 2017. – № 64 (3). – P. 729–745. doi:10.1111/tbed.12444. Epub 2015. Nov 13. PMID:26564428. PMCID:PMC5434826
3. *Babiuk, S.* Capripoxviruses: an emerging worldwide threat to sheep, goats and cattle / S. Babiuk [et al.] // Transbound Emerg Dis. – 2008. – № 55 (7). – P. 263–72. doi:10.1111/j.1865-1682.2008.01043.x. PMID:18774991

4. *OIE*. Sheeppox and goatpox. Terrestrial Manual. – Paris, 2008. – P. 1058–1068.
5. *CFSPH*. The Center for Food Security Public Health. Iowa State University. College of Veterinary Medicine and Institution of International cooperation in Animal Biologics, an OIE collaborating center. – Ames, 2008.
6. *World Organisation for Animal Health*. OIE terrestrial manual: lumpy skin disease [Electronic resource] // Paris : World Organisation for Animal Health. – 2018. – Mode of access: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.0. – Date of access: 27.12.2020.
7. *Chibssa, T. R.* An HRM Assay to Differentiate Sheeppox Virus Vaccine Strains from Sheeppox Virus Field Isolates and other Capripoxvirus Species / T. R. Chibssa [et al.] // *Sci Rep*. – 2019. – № 9 (1). – P. 6646. doi:10.1038/s41598-019-43158-x. PMID:31040355. PMCID:PMC6491823.8
8. *Uzar, S.* Comparison and efficacy of two different sheep pox vaccines prepared from the Bakırköy strain against lumpy skin disease in cattle / S. Uzar [et al.] // *Clin Exp Vaccine Res*. – 2022. – № 11 (1). – P. 1–11. doi:10.7774/cevr.2022.11.1.1. Epub 2022 Jan 31. PMID:35223661. PMCID:PMC8844671
9. *Эффективность* сухой культуральной вирусвакцины из штамма НИСХИ против оспы овец / Ф. П. Курченко [и др.] // *Ветеринария*. – 1991. – № 10. – С. 21–23.
10. *Орлова, Е. С.* Совершенствование методов диагностики оспы овец и оспы коз : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.06 / Е. С. Орлова. – Владимир, 2007. – 133 с.

К. А. Шалина,

ведущий ветеринарный врач

П. В. Прутников,

ведущий ветеринарный врач

О. Г. Губенко,

кандидат биологических наук, младший научный сотрудник

А. О. Кротова,

аспирант, ведущий биолог

О. П. Бьядовская,

кандидат биологических наук

*Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»),
г. Владимир, Российская Федерация*

КЛИНИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСПЕ ОВЕЦ

Резюме. Оспа овец является особо опасной трансграничной болезнью мелкого рогатого скота, способной вызывать эпизоотии и наносить большой экономический ущерб, который складывается из потерь от гибели и вынужденного убоя больных животных, замедления их роста и развития животного, что приводит к снижению продуктивности, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и охранно-карантинных мероприятий. Оспа овец и оспа коз подлежат обязательной нотификации в ВОЗЖ. В настоящее время оспа овец и оспа коз имеют широкое распространение в мире. Напряженность эпизоотической ситуации по оспе овец и оспе коз в многих сопредельных с Российской Федерацией странах представляет высокий риск заноса инфекции на территорию нашей страны и является актуальной проблемой по настоящее время. В статье представлено описание патологического процесса и клинико-анатомических изменений при инфицировании животных вирусом оспы овец.

Ключевые слова: оспа овец, овцы, каприпоксвирусы, клинические признаки, патологоанатомическая картина, патогенез.

Summary. Sheep pox is a particularly dangerous cross-border disease of small cattle, capable of causing epizootics and causing great economic damage, which consists of losses from the death and forced slaughter of sick animals, reducing their growth and development of the animal, which leads to a decrease in productivity, costs of veterinary and sanitary and quarantine measures. Sheep pox and goat pox are subject to mandatory notification in the VOZH. Currently, sheep pox and goat pox are widespread in the world. The intensity of the epizootic situation of

sheep pox and goat pox in many countries adjacent to the Russian Federation poses a high risk of infection entering the territory of our country and is an urgent problem to this day. The article describes the pathological process and clinical and anatomical changes in the infection of animals with sheep pox virus.

Keywords: sheep pox, sheep, capripoxviruses, clinical signs, pathoanatomic picture, pathogenesis.

Оспа овец (ОО) – трансграничные высококонтагиозные особо опасные вирусные болезни мелкого рогатого скота, которые представляют серьезную угрозу для животноводства не только в Российской Федерации, но и в других странах, где выращивание и разведение мелкого рогатого скота является культурной традицией [1–3, 7].

Восприимчивыми животными являются дикие и домашние овцы и козы всех пород и возрастов, особенно уязвимы тонкорунные породы, кроме того заболевание может регистрироваться среди диких животных, таких как сайгаки, козероги, газели, туры и другие полорогие. Последние могут служить источником и переносчиком инфекции [4]. Некоторые породы европейских овец могут погибать от острой инфекции до начала развития кожных поражений.

Уровень заболеваемости и смертности зависит от породы животного, его иммунитета, а также от вирулентности и патогенности возбудителя. Вспышки оспы овец могут ограничивать торговлю, экспорт и развитие интенсивного животноводства.

Заболевание наносит значительный экономический ущерб животноводству, связанный с гибелью и вынужденным убоем больных животных, снижением продуктивности, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и карантинно-охранных мероприятий. ОО оказывает значительное влияние на уровень жизни в малых фермерских хозяйствах и бедных сельских эндемичных регионах [5, 8].

Возбудителем заболевания являются двухцепочечные ДНК-содержащие вирусы рода *Capripoxvirus*, семейства *Poxviridae*, в международной номенклатуре именуемого *Sheeppoxvirus* (сокр. SPPV) [6, 7]. Вирус вызывает заболевание у животных с образованием на коже папул, пустул с поражением внутренних органов и высокой летальностью, иногда достигающей 100 % [1, 5, 9].

Источником вируса инфекции являются больные и переболевшие оспой восприимчивые животные, их секреты и экскреты. Возбудитель передается путем прямых и непрямых контактов больных и здоровых восприимчивых животных, аэрогенно и алиментарно, а также путем механического переноса (инвентарь по уходу, подстилка, транспорт и т. д.) [4, 6, 8].

Диагноз на оспу овец основывается на результатах эпизоотологического обследования, выявленных клинических признаках и патологоанатомии-

ческих изменениях и подтверждается результатами лабораторных исследований, а именно выделен и идентифицирован в реакции нейтрализации (РН) или в полимеразной цепной реакции (ПЦР) возбудитель и (или) его генетический материал [6, 10].

Вспышки оспы овец носят спорадический характер и могут зависеть от различных факторов: перемещение животных, особенности содержания животных, физиологическое состояние животных. За период с 2019 по 2022 г. в Российской Федерации было зарегистрировано 32 очага инфекции в различных регионах страны (см. табл.). В 2022 г. было зарегистрировано 2 очага инфекции среди диких животных на территории Республики Дагестан. На июнь 2023 г. в РФ оспа овец не зарегистрирована [10].

Распространение ОО на территории Российской Федерации в 2019–2022 гг.

Субъект РФ	Количество очагов			
	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Воронежская область	1	0	0	0
Московская область	4	1	0	0
Тверская область	7	0	0	0
Республика Дагестан	0	1	0	3 (2 дикие)
Псковская область	1	1	0	0
Смоленская область	0	1	0	0
Калужская область	0	1	0	0
Ивановская область	0	1	2	0
Костромская область	0	0	7	0
Ярославская область	0	0	2	0
<i>Всего</i>	13	6	11	3

Проведенные в ФГБУ «ВНИИЗЖ» исследования проб биоматериала, полученного из очагов оспы овец на территории РФ в 2019–2022 гг. с помощью ПЦР-РВ с НРМ-анализом, способного дифференцировать вакцинный штамм «НИСХИ» оспы овец от вирулентных изолятов вируса оспы овец дикого типа, показали, что все вспышки были вызваны полевым вирусом.

Инкубационный период заболевания длится от 3 до 21 дня с момента заражения, его длительность зависит от способа попадания вируса в организм восприимчивых животных.

Возбудитель оспы овец обладает эпителиотропностью и способен вызывать на коже своеобразные оспенные поражения. При этом патологический процесс можно разделить на стадии. На 1–2-е сутки клинического проявления сыпь представляет собой круглые розоватые пятнышки (розеолы). На следующей стадии розеолы становятся узелками (папулами), которые быстро увеличиваются в размере и превращаются в везикулы (пузырьковая сыпь), которые наполнены серо-желтоватой жидкостью. При по-



Рис. 1. Характерные оспенные поражения:
 А – на морде животного, Б – в подмышечных впадинах

явлении везикул начинают угасать лихорадочные явления, везикулярная сыпь длится в течение 5–7 дней. Содержимое везикул мутнеет, становится гнойным наступает стадия пустул, которые в процессе созревания вскрываются. Вскрывшиеся пустулы начинают подсыхать, и на их месте образуются корушки (струппы).

Осложнения проявления клинического процесса и распространения заболевания зависят от видовой и индивидуальной устойчивости животного, вирулентности возбудителя, способа заражения и состояния кожных покровов [10].

Клинически оспа овец проявляется повышением температуры тела, отказом от корма, угнетением, появлением характерной папулезно-пустулезной сыпи на бесшерстных участках кожи, кроме кожных изменений у животных регистрируют слизисто-гнойные выделения из глаз и носа (конъюнктивит и ринит), затрудненное дыхание, увеличение поверхностных лимфатических узлов. Папулезно-пустулезная сыпь может располагаться как на отдельных участках кожного покрова животного, так и на всей поверхности тела и (или) слизистых оболочках ротовой, носовой полостей (см. рис. 1).

Следует учитывать, что оспа овец может протекать в подострой или субклинической форме. Такое течение болезни может регистрироваться у ранее вакцинированных животных, молодняка, полученного от вакцинированных животных, продолжительной циркуляции вируса внутри стада, и (или) при слабой вирулентности возбудителя. Заболевание протекает без характерных оспенных поражений кожных покровов, но сопровождается подъемом температуры, ринитом, конъюнктивитом, появлением не-

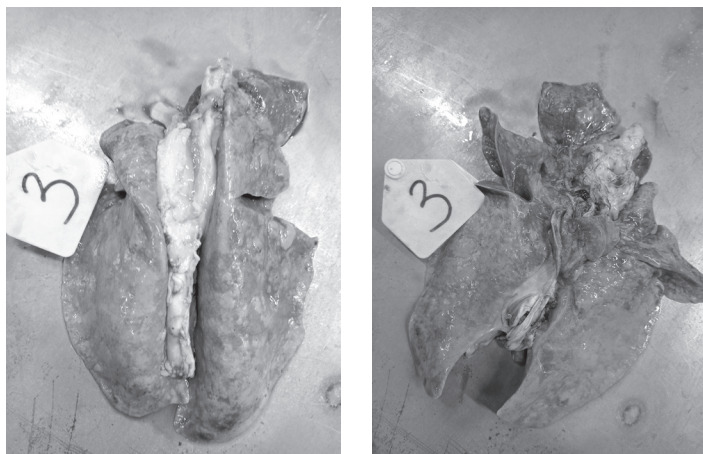


Рис. 2. Патологоанатомические изменения в легких

больших эрозий на слизистых ротовой и носовой полости, узелковые поражения могут быть небольших размеров и малозаметны. При этом такие животные выделяют возбудителя в окружающую среду также, как и клинически больные. Это может приводить к распространению болезни на ранее благополучные территории при перемещении животных, так как при клиническом осмотре выявить заболевание достаточно сложно.

Лабораторные исследования, проводимые перед перемещением животных с неблагополучных территорий, позволяют оперативно выявить субклинически болеющих особей.

Патологические изменения у животных, больных оспой овец, характеризуются папулезно-пустулезной сыпью, которая поражает все слои кожи (эпидермис, дерму), поражения могут образовывать крупные, генерализованные очаги. Отмечают эрозии на слизистых оболочках ротовой и носовой полостей, увеличение, отечность поверхностных лимфоузлов, на разрезе в лимфоузлах появляются обширные или мелкие точечные кровоизлияния. В легких находят обширные поражения долей (пневмония разной степени тяжести), характерные очаги узелковых поражений (могут быть единичны или множественные); застойные явления, отеки, очаги пролиферации с некрозом, лобулярный ателектаз (см. рис. 2). Увеличения и отеки средостенных лимфоузлов с точечными кровоизлияниями в них [3, 4, 6].

В легких при гистологическом исследовании обнаруживают следующую картину: некроз и десквамация эпителия бронхов, в их просвете серозный экссудат, обтурационные ателектазы, тотальную инфильтрацию межуточной ткани лимфоидным клеточным элементом, множественные и мелкоочаговые кровоизлияния с демаркационным слоем из лимфоцитов (рис. 3.4). При исследовании пораженных участков кожи можно выявить

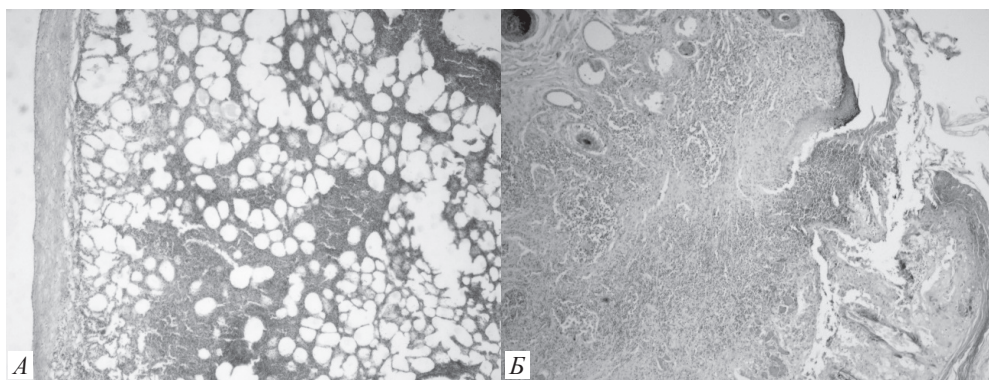


Рис. 3. Гистологические изменения в легких (А) и кожных покровов (Б)

следующие изменения: некроз эпидермиса, гиперемия дермы и подкожной клетчатки, полиморфную ядерно-лимфоцитарную инфильтрацию (некроз волосяных луковиц, деструктивное изменение сальных и потовых желез, пролиферацию эпителия по краям везикулы, спонгиоз). Пустулы при гистологическом исследовании имеют межклеточный отек клеток эпителия кожи, стирание границ между клетками, некроз эпителия, инфильтрацию кожи и подкожной клетчатки лимфоцитами гистиоцитами. В центре пустул – ободок полиморфно-ядерных лейкоцитов, гиперемия, некроз (рис. 3Б).

Таким образом, оспа овец может проявляться в различных формах, субклинически или с явными клиническими признаками. Форма проявления заболевания зависит от множества факторов: индивидуального состояния животных, иммунитета, возраста, породы, упитанности, погрешностей зоотехнии. Поэтому при появлении у животных признаков болезни, протекающей с эрозивными поражениями на коже и (или) слизистых оболочках, в особенности если при этом болезнь осложняется респираторной симптоматикой, необходимо проводить дифференцирование заболевания лабораторными методами. Исключение оспы овец только посредством клинического диагноза может привести к распространению заболевания на ранее благополучные хозяйства и территории.

Литература и источники

1. *Распространение оспы овец и оспы коз на территории Российской Федерации в 2018–2019 гг.* / К. А. Шалина [и др.] // Достижения молодых ученых – в ветеринарную практику : материалы 5-й Междунар. науч. конф. – Владимир, 2019. – С. 71–76.
2. *Тест-система для выявления генома вируса оспы овец методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени* : пат. 2744092 / А. В. Спрыгин [и др.] // Бюл. № 7 ; ФГБУ «ВНИИЗЖ». – № 2020117383 ; заявл. 15.05.2020 ; опубл. 02.03.2021.

3. *Антигенная и протективная активность ассоциированной вирусвакцины против оспы овец, оспы коз и чумы мелких жвачных* / А. В. Константинов [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 3. – С. 28–32.

4. *Изучение эффективности вирусвакцины против оспы на овцах в экспериментальных условиях и условиях эпизоотии* / В. И. Диев [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 2 (21). – С. 62–66.

5. *Collins, T. J.* All in the family: the BTB/POZ, KRAB, and SCAN domains / T. J. Collins // Mol. Cell. Biol. – 2001. – № 21. – P. 3609–3615.

6. *Ветеринарные правила* осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов оспы овец и коз [Электронный ресурс] : утв. приказом Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 24 августа 2021 г. № 587 // Консультант Плюс. Россия / ЗАО «Консультант Плюс». – М., 2021.

7. *Рекомбинантные белки P17, P18 и P32 вируса оспы овец как потенциальные антигены для иммуноферментного анализа* / Е. С. Орлова [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2006. – Т. 4. – С. 30–35. – EDN MEHSOJ.

8. *Оспа овец и оспа коз* : учеб. пособие / А. В. Кононов [и др.]. – Владимир : [б. и.], 2021. – 45 с.

9. *Оспа овец* // Вестник ветеринарии. – 2018. – № 1 (84). – С. 53–57.

10. *Особенности распространения оспы овец на территории Российской Федерации в 2019–2021 гг.* / К. А. Шалина [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2022. – Т. 18. – С. 212–232. doi:10.29326/9785907612136_2022_18_212

3. РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

УДК 619:616.981.45:571.1

Б. А. Элмуродов,

доктор ветеринарных наук, профессор

М. М. Алламуродова,

стажер-исследователь

Ф. Курбонов,

младший научный сотрудник

З. Н. Киямова,

докторант-исследователь

*Научно-исследовательский институт ветеринарии,
г. Самарканд, Республика Узбекистан*

ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД К ПРОФИЛАКТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖИВОТНЫХ

Резюме. В данной статье описано создание на основе инновационных технологий поливалентной формалиновой гидроокись-алюминиевой (ГОА) вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и пастереллеза сельскохозяйственных животных. Эффективность вакцины изучалась по результатам научных исследований.

Ключевые слова: микробиология, вакцина, пастереллез, колибактериоз, сальмонеллез, иммунитет, инвазия, иммунология.

Summary. In this article, on the basis of new innovative technologies, a polyvalent formalin GOA vaccine against colibacillosis, salmonellosis and pasteurellosis of farm animals was created. It is emphasized that the effectiveness of this vaccine was studied based on the results of scientific studies.

Keywords: microbiology, vaccine, pasteurellosis, colibacillosis, salmonellosis, immunity, invasion, immunology, biotechnology.

Введение. Исходя из Указа Президента Республики Узбекистан от 28 марта 2019 г. № 5696 «О мерах по коренному совершенствованию государственного управления отраслью ветеринарии и животноводства», постановлений Президента Республики Узбекистан от 28 марта 2019 г. PQ-4254 «Об организации государственного Комитета ветеринарии и развития животноводства» и от 28 марта 2017 г. PQ-3026 «О мерах по организации деятельности по новому подходу государства и общественности к развитию Республики», принимая во внимание нехватку поставок ветеринарных препаратов в личные подсобные животноводческие хозяйства и тот факт, что ветеринарные препараты, используемые в республике, в основном импортируются из зарубежных стран, научные исследования направлены на создание конкурентоспособных биопрепаратов с использованием отечественного сырья. Благодаря биопрепаратам, производимым в институте, экономится государственная валюта, осваиваются новые технологии, создаются рабочие места.

Рентабельность сельскохозяйственного производства и развитие государственных, фермерских и личных подсобных хозяйств зависят от таких факторов, как увеличение поголовья животных, повышение их продуктивности, получение здорового потомства, надлежащий уход за ними, защита их от различных заболеваний. Инфекционные заболевания сельскохозяйственных животных, среди которых выделяются пастереллез, колибактериоз и сальмонеллез, наносят значительный ущерб хозяйствам. Эти заболевания широко распространены и являются одной из главных проблем в животноводстве. При этом отсутствие биологических и химических препаратов, которые предотвращают или лечат данные болезни животных, может еще больше осложнить проблему и способствовать дальнейшему распространению вышеуказанных инфекционных заболеваний.

Смешанные формы заболеваемости пастереллезом, сальмонеллезом и колибактериозом среди домашнего скота в республике на сегодняшний день составляют 80–85 %, а смертность – в пределах 10–12 %. Значительные средства вкладываются в лечение больных животных и меры по борьбе с заболеванием. Животные, которые выздоравливают после заражения, отстают в росте и развитии и становятся переносчиками этих заболеваний. Поэтому производство биопрепаратов со специальным комплексом для профилактики и лечения этих заболеваний является одной из актуальнейших проблем для отечественной ветеринарной науки.

Цель исследований – создание на основе инновационных технологий поливалентной формалиновой вакцины ГОА против колибактериоза, сальмонеллеза и пастереллеза сельскохозяйственных животных и изучение ее эффективности.

Материалы и методы. Для проведения исследовательской работы в этом направлении была разработана экспериментальная поливалентная ГОА формол-вакцина из существующих изолированных штаммов пастерелл, сальмонелл и эшерихий, которая прошла соответствующие испытания и контроль. Стерильность вакцины определялась методом посева био-препарата на различные питательные среды, а безвредность – в опыте на десяти белых мышах, которым вакцину вводили подкожно в количестве 0,5 мл. Все белые мыши выживали в течение 10 дней наблюдения, следовательно, установлено, что вакцина безвредна.

Исследования были проведены на 12 головах ягнят в лабораторных условиях с использованием биологически контролируемой вакцины. Ягнята были разделены на 3 группы. Первую группу вакцинировали экспериментальной серией поливалентной ГОА вакцины 2 раза с интервалом в 14 дней: первый раз – по 2 мл, второй раз – по 3 мл подкожно. Во второй группе была проведена подкожная вакцинация в дозе 3 мл однократно поливалентной ГОА формол-вакциной. Третья группа была контрольной, животные не вакцинировались. Через 12 месяцев после вакцинации животные всех групп были инфицированы в дозе 15 млрд микробных клеток (LD_{100}) возбудителями пастереллеза, колибактериоза и сальмонеллеза.

Через 90, 180, 270 и 360 дней после вакцинации у овец брали кровь для проведения реакции агглютинации и определяли титр антител. Полученные результаты были проанализированы, сделаны соответствующие выводы.

Результаты исследований. Изучение иммуногенности ГОА формол-вакцины против колибактериоза, сальмонеллеза и пастереллеза овец и ягнят проводили в виварии Научно-исследовательского института ветеринарии (НИИВ). Продолжительность опыта составляла 12 месяцев. В результате в первом эксперименте (1-я группа, в которой животные были вакцинированы дважды), не наблюдалось смерти после истечения периода наблюдения. Во 2-й группе произошел падеж на 7–8-й день после того, как были заражены 2 головы овец. В контрольной группе все овцы погибли. Таким образом, эффективность вакцины составила 100 % в первой группе и 50 % – во второй. Установлено, что поливалентная ГОА формол-вакцина против колибактериоза, сальмонеллеза и пастереллеза домашнего скота, созданная в НИИВ, соответствует требованиям в следующих дозах: для взрослых животных первая доза – 2 мл, вторая (ревакцинация) через 14 дней – 3 мл, для ягнят первая доза – 1 мл, вторая – 2 мл через 14 дней.

Заключение. Впервые в Узбекистане была разработана и внедрена поливалентная ГОА формол-вакцина против пастереллеза, сальмонеллеза и колибактериоза сельскохозяйственных животных, изготовленная из штаммов, циркулирующих на территории республики. Рекомендовано применение данной вакцины ежегодно в январе–феврале.

Литература

1. Булханов, Р. У. Естественная резистентность и иммуногенез у вакцинированных животных / Р. У. Булханов, И. В. Пяснянский, Б. Ш. Мирзаев // Научное обеспечение ветеринарного благополучия животноводства Узбекистана. – Самарканд, 1996. – С. 38–39.
2. Сытдииков, А. К. Вопросы этиологии колибактериоза и сальмонеллеза телят в промышленных комплексах / А. К. Сытдииков, И. Д. Бурлуцкий // Труды УзНИВИ. – 1981. – Т. 31. – С. 24.
3. Малахов, Ю. А. Специфическая профилактика и диагностика бактериальных болезней животных / Ю. А. Малахов, Р. В. Душук // Ветеринария. – 2014. – № 1. – С. 35.
4. Егорова, Н. И. Биологические свойства вакцинного штамма В-0086 *Salmonella Dublin* 13–20 после длительного хранения / Н. И. Егорова, А. К. Мусаев, Г. К. Жусупов // Сб. науч. тр. КазНИВИ. – Алматы, 2012. – С. 105–109.

УДК 619:615.37.012

К. А. Котегова,

аспирант^{1, 2}

¹ФКП «Щёлковский биокомбинат», п. Биокомбината,

г. о. Лосино-Петровский, Московская область, Российская Федерация

²Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт

биологической промышленности, п. Биокомбината, 17,

г. о. Лосино-Петровский, Московская область, Российская Федерация

АКТУАЛЬНОСТЬ БОРЬБЫ С БЕШЕНСТВОМ

Резюме. Бешенство – вакциноконтролируемая вирусная инфекция, ситуация в мире по которой остается напряженной. Наличие и распространение вируса бешенства среди диких животных является глобальной проблемой инфекционной патологии, эпидемиологии, эпизоотологии и экологии.

Ключевые слова: бешенство, эпизоотии бешенства, оральная вакцинация, антирабические вакцины.

Summary. Rabies is a vaccine-controlled viral infection, the situation in which the world remains tense. The presence and spread of the rabies virus among wild animals is a global problem of infectious pathology, epidemiology, epizootology and ecology.

Keywords: rabies, rabies epizootics, oral vaccination, anti-rabies vaccines.

Одной из вакциноконтролируемых вирусных инфекций, ситуация в мире по которой остается напряженной, является бешенство [1]. *Бешенство* – острое вирусное инфекционное заболевание, которое сопровождается нарушением функции центральной нервной системы, проявляется параличами и энцефаломиелитами [2]. Возбудителем является РНК-содержащий вирус порядка Mononegavirales, семейства Rhabdoviridae, рода

Lyssavirus, вида *Rabies virus* [3]. Способов лечения бешенства на стадии развития клинических признаков болезни на сегодняшний день не существует, поэтому вероятность летального исхода достигает 100 % [4]. Бешенством болеют все млекопитающие. Бешенство как болезнь и его возбудитель достаточно хорошо изучены: детально описаны морфология и физико-химические свойства вируса бешенства, его геном, иммуногенные свойства, эпизоотология, патогенез, клинические признаки болезни, разработаны средства специфической профилактики, методы диагностики и оценки эффективности вакцинации [2, 3].

Необходимость профилактики и борьбы с бешенством определяется не только фатальностью этой болезни, но и ее высокой социально-экономической значимостью [5]. Экономический ущерб от заболеваемости бешенством людей и животных определяется затратами на оказание медицинской помощи, потерями из-за падежа и умерщвления сельскохозяйственных животных, потерями продукции, ожидаемой от этих животных, расходами на борьбу с бешеными животными, расходами на проведение карантинных мероприятий, вакцинации и диагностических исследований.

Наличие и распространение вируса бешенства среди диких животных представляет мировую проблему инфекционной патологии, эпидемиологии, эпизоотологии и экологии [2, 3]. Бешенство является приоритетным зоонозом для всех 53 стран – членов Всемирной организации охраны здоровья животных (МЭБ) Европейского региона. Многие европейские страны ликвидировали бешенство в течение последних нескольких лет. Почти все страны – члены Европейского союза (Австрия, Андорра, Азорские острова, Бельгия, Хорватия, Чешская Республика, Дания, Эстония, Фарерские острова, Финляндия, Франция, Германия, Гибралтар, Греция, Исландия, Ирландия, Италия, Латвия, Лихтенштейн, Люксембург, Мальта, Монако, Нидерланды, Норвегия, Португалия, Сан-Марино, Словакия, Словения, Испания, Швеция), Швейцария и Великобритания были объявлены юрисдикциями, свободными от бешенства. С 1989 по 1995 г. для борьбы с бешенством диких плотоядных животных в странах Западной Европы эффективно применялась оральная вакцинация, после чего статус свободных от бешенства получили следующие страны: Финляндия, Нидерланды, Италия, Швейцария, Франция, Бельгия и Люксембург. В большинстве стран Европейского союза (кроме Польши, Румынии, Болгарии, Хорватии, Кипра и Литвы) регистрируется снижение аутохтонных заражений людей с ростом завозных случаев бешенства среди путешественников. Заболеваемость населения сегодня в перечисленных странах не превышает трех случаев в год [1]. Некоторые островные государства (Великобритания, Мальта, Австралия, Япония, Новая Зеландия, страны Океании) признаны

свободными от бешенства благодаря жестким карантинным мерам в отношении ввозимых животных. Многолетняя вакцинация домашних собак и кошек, оральная вакцинация против бешенства диких животных, надзор и сотрудничество с заинтересованными сторонами в рамках подхода «Единое здоровье» позволили добиться положительной динамики и признания некоторых стран свободными от бешенства.

В 2015 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО), МЭБ и Глобальный альянс по борьбе с бешенством (GARC) объединились, чтобы принять общую стратегию по достижению цели «Ноль смертей от бешенства среди людей к 2030 году», и создали Объединение в деле борьбы с бешенством [6]. Эта инициатива – первый случай, когда секторы общественного здравоохранения и ветеринарии объединились для отстаивания приоритетности инвестиций для борьбы с бешенством и координации глобальных усилий по ликвидации бешенства.

ВОЗ регулярно пересматривает и распространяет технические рекомендации по актуальным вопросам борьбы с бешенством, включая эпидемиологию, эпидемиологический надзор, диагностику, вакцины, безопасную и экономически эффективную иммунизацию, стратегию контроля и профилактики бешенства у человека и животных [1]. Бешенство включено в новую дорожную карту ВОЗ на 2021–2030 годы, согласно которой борьба с бешенством, с учетом зоонозного характера этой болезни, должна вестись в рамках тесного межведомственного взаимодействия на национальном, региональном и глобальном уровнях [7].

Наиболее неблагополучным регионом мира по заболеваемости бешенством является Юго-Восточная Азия (Индия, Китай, Вьетнам, Филиппины, Лаос, Индонезия и другие азиатские страны). В южном полушарии абсолютно преобладает антропоургический цикл распространения бешенства, а в северном полушарии в природные и антропоургические циклы вовлекаются многие виды диких животных (лисицы, скунсы, еноты, енотовидные собаки, мангусты, различные рукокрылые) [8]. В мире в целом на долю собак приходится 66 % случаев бешенства, диких плотоядных – 28, рукокрылых – 6 %.

В ряде стран Восточной Европы, в РФ и странах СНГ бешенство продолжает оставаться эндемичной инфекцией [9].

С 2017 г. бешенство животных выявлялось на территориях 72 субъектов Российской Федерации, во всех природно-климатических зонах. За 2021 г. наибольшее количество животных с подтвержденным бешенством было выявлено в Саратовской, Пензенской, Московской, Челябинской, Владимирской, Тамбовской, Тверской, Смоленской, Самарской, Тюменской и Ярославской областях [10].

ФГБУ «ВНИИЗЖ» совместно с ветеринарными службами стран СНГ подготовлен «Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 года», являющийся программой согласованных действий государств СНГ по борьбе с этим заболеванием [11]. Задачи, определенные с помощью Комплекса совместных действий, активно реализуются, разрабатываются программы по профилактике и борьбе с бешенством, проводятся диагностические исследования диких и домашних животных с оценкой эпизоотической ситуации, осуществляются профилактическая иммунизация животных и мониторинг иммунного статуса, проводится оценка эффективности действующих мероприятий. Комплекс включает Дорожную карту по разработке и реализации национальной программы по борьбе с бешенством на период до 2025 года. В связи с непростой эпизоотической обстановкой по бешенству животных в странах СНГ, правительства государств – участников СНГ разрабатывают национальные программы по борьбе с бешенством животных.

Таким образом, мировой опыт борьбы с бешенством животных показывает возможность достигнуть полного отсутствия бешенства в регионе, при этом вакцинопрофилактика занимает ведущее место в борьбе с этим заболеванием. Основным способом борьбы с бешенством диких плотоядных животных остается оральная вакцинация с использованием приманок. Использование вакцинных приманок оказалось успешным в борьбе с бешенством среди диких животных во многих странах Европы и мира.

На ФКП «Щёлковский биокомбинат» производится оральная вакцина на основе аттенуированного штамма «РВ-97» вируса бешенства «Оралрабивак», которая была использована для борьбы с бешенством в рамках действия региональных программ ликвидации лесного бешенства в 2021–2022 гг., и регистрируется оральная вакцина, содержащая аттенуированный вирус бешенства, штамм TriGAS.

Литература и источники

1. *Бешенство* [Электронный ресурс] // МЭБ, 2021. – Режим доступа: www.oie.int. – Дата доступа: 16.06.2022.
2. *Инфекционная патология животных : руководство : в 7 т. – Т. 2 : Бешенство* / А. Я. Самуйленко [и др.] – М. : ВНИТИБП, 2012. – 153 с.
3. *Груздев, К. Н.* Бешенство животных / К. Н. Груздев, А. Е. Метлин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. – 442 с.
4. *Сидоров, Г. Н.* Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16–21 веках / Г. Н. Сидоров, Е. М. Поleshuk, Д. Г. Сидорова // Зоологический журнал – 2019. – № 4 (98) – С. 437–452. doi:10.1134/S0044513419040159

5. Гулюкин, А. М. Экономический ущерб, причиняемый бешенством сельскохозяйственных животных в России / А. М. Гулюкин, О. Н. Зайкова, А. В. Паршикова // *Russian J. Agricultural and Socioeconomic Sci.* – 2016. – № 8 (56). – С. 34–38.
6. *Analysis of rabies diagnosis in dogs and cats in the state of Sro Paulo, Brazil* / J. G. Castilho [et al.] // *Archives of Virology.* – 2018. – № 163. – P. 2369–2376.
7. *Zero by 30: the global strategic plan to end human deaths from dog-mediated rabies by 2030* [Electronic resource] // WHO, 2018. – Mode of access: <http://apps.who.int/handle/10665/272756>. – Date of access: 16.06.2022.
8. *Human rabies in China, 1960–2014 : a descriptive epidemiological study* / H. Zhou [et al.] // *Public Library of Science : Neglected Tropical Diseases.* – 2016 – № 10 (8). – P. e0004874. doi:10.1371/journal.pntd.0004874
9. Полещук, Е. М. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риска заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века / Е. М. Полещук, Г. Н. Сидоров // *Проблемы особенного потребления.* – 2020. – № 4. – С. 16–25. doi:10.21055/0370-1069-2020-4-16-25
10. Анисина, О. В. Ретроспективный анализ эпизоотии бешенства в Московской области / О. В. Анисина, В. И. Клюкина, Н. М. Пухова // *Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов : материалы Междунар. науч.-практич. конф. молодых ученых.* – Лосино-Петровский, 2022. – С. 132–139. doi:10.47804/9785899040313_2022_132
11. *О Комплексе совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 года* [Электронный ресурс] : решение Совета глав правительств Содружества Независимых Государств, 1 июня 2018 г. // Интернет-портал СНГ / Единый реестр правовых актов и других документов Содружества Независимых Государств. – Режим доступа: <http://www.cis.minsk.by/reestr2/doc/5789#text>. – Дата доступа: 16.06.2022.

Д. В. Бучукури,

кандидат ветеринарных наук, доцент

Н. А. Ковалёв,

доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси

Д. С. Борисовец,

кандидат ветеринарных наук, доцент,

В. В. Жалдыбин,

кандидат ветеринарных наук, доцент

И. А. Курбат,

старший научный сотрудник

Г. Е. Толяронок,

кандидат ветеринарных наук, доцент

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

СУХАЯ АНТИРАБИЧЕСКАЯ ВАКЦИНОСОДЕРЖАЩАЯ ПРИМАНКА ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Резюме. В статье представлены результаты разработки и испытания эффективности сухой антирабической вакциносодержащей приманки орального применения для домашних и диких плотоядных. Приманка содержит вакцинный штамм вируса бешенства КМИЭВ-94. Приманка антирабическая вакциносодержащая ударопрочна, безвредна для целевых, домашних и лабораторных животных и при поедании вызывает положительную сероконверсию выше 0,5 МЕ/мл. Приманка пригодна для распространения с помощью малой авиации в местах обитания плотоядных.

Ключевые слова: бешенство, вирус, штамм, вакцина.

Summary. The article presents the results of the development and testing of the effectiveness of a dry anti-rabies vaccine-containing oral bait for domestic and wild carnivores. The bait contains a vaccine strain of the rabies virus KMIEV-94. The anti-rabies vaccine-containing bait is impact-resistant, harmless to target, domestic and laboratory animals. when eaten by them causes positive seroconversion, above 0,5 ME/ml. Vaccine-containing bait is suitable for distribution by small aircraft.

Keywords: rabies, virus, strain, vaccine.

Бешенство – опасное вирусное заболевание всех теплокровных животных и человека. При появлении клинических признаков заболевания у животных или у человека неминуемо наступает летальный исход.

Несмотря на то, что в решении проблем, связанных с профилактикой бешенства, достигнуты значительные успехи, множество вопросов все еще остается нерешенными, и заболевание по степени распространения, тяжести проявления, социально-экономической значимости занимает одно из ведущих мест в инфекционной патологии животных и человека.

По данным экспертов ВОЗ и МЭБ, ежегодно в мире от бешенства погибает от 55 до 60 тыс. человек и более 1 млн животных. Бешенство получило широкое распространение и в Республике Беларусь. Напряженность эпизоотической ситуации усугубляется распространением бешенства диких плотоядных в сопредельных государствах и прозрачностью государственных границ для миграции животных.

В Республике Беларусь, несмотря на проводимые мероприятия по профилактике бешенства диких плотоядных животных, эпизоотическая ситуация остается напряженной. Проводимые профилактические антирабические вакцинации против бешенства в буферной зоне с сопредельными государствами Европейского союза с применением антирабических блистерприманок в целом не спасают положение, и распространение бешенства среди животных создает реальную угрозу здоровью и жизни людей. Обращаемость населения в связи с укусами, оцарапыванием и ослонением животными, в том числе и бешеными, в последние годы возросла до 25 тыс. случаев в год. В 2000–2006 гг. отмечено 6 случаев гибели людей от гидрофобии [1].

В последние десятилетия резервуаром и главным источником вируса бешенства в Беларуси являются дикие плотоядные, в первую очередь лисицы и енотовидные собаки, на долю которых приходится приблизительно 72 % случаев заболевания. Являясь основным вектором распространения бешенства, они непосредственно или через собак и кошек заражают бешенством домашних, сельскохозяйственных животных и человека. Следовательно, наиболее эффективным способом борьбы с бешенством является ликвидация очагов инфекции в популяциях лисиц и других плотоядных. Для этого осуществляемые меры борьбы с бешенством должны быть направлены на снижение плотности популяции данного вида животных, которая в Беларуси очень велика (4–5 особей на 10 км²). Комитет экспертов ВОЗ считает, что для предупреждения роста эпизоотии бешенства плотность лисиц не должна превышать 2 особи на 10 км². Однако проводимые мероприятия, направленные на снижение численности лисиц (отстрел, газация нор, отравление приманками, гормональная стерилизация и др.), дают лишь временный эффект и не решают проблему, о чем свидетель-

ствуется опыт ряда европейских стран [2]. Кроме того, эти мероприятия могут нарушить экологическое равновесие в природе и приводят к отрицательным последствиям.

Поэтому в основу профилактики бешенства среди диких плотоядных в настоящее время, наряду со снижением их численности, положена пероральная вакцинация, которая технически осуществима в природных условиях.

Для изготовления антирабических вакцин перорального применения в настоящее время в различных странах используют следующие штаммы вирусов: PV Paris [3], SAD [4], SADB19 [5], SAG1, SAG2 [6], Внуково-32/107 [7], ТС-80 [8], РВ-97 [9], VRG [10]. В Республике Беларусь применяют аттенуированные культуральные штаммы 71 Бел-НИИЭВ-ВГНКИ [11] и КМИЭВ-94 [12], дериват от штамма 71 Бел-НИИЭВ-ВГНКИ, который в 2008 г. был сконструирован для пероральной иммунизации плотоядных животных против бешенства, и разработана технология их приготовления.

В настоящее время в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» создана и проходит лабораторные испытания сухая антирабическая вакциносодержащая приманка для пероральной иммунизации плотоядных на основе модифицированного вируса бешенства, штамм КМИЭВ-94. Она представляет собой приманку прессованную, которая состоит из мясокостной, пшеничной, рыбной муки, стеарина, тетрациклина, желатина и вируса бешенства, штамм КМИЭВ-94. Сухая антирабическая вакциносодержащая приманка при изготовлении является технологичной, малозатратной. При изготовлении компонентов приманки вирусная биомасса не находится под воздействием высокой температуры, не инактивируется, и вирус сохраняется в приманке в максимальном количестве. Изготовленные вакциносодержащие приманки выдерживают давление груза при комнатной температуре до 12–15 кг и в течение 5 суток сохраняют форму и консистенцию.

В дальнейшем вакциносодержащие приманки были проверены на сохранность вируса бешенства в них. По итогам опыта титр вируса бешенства в готовых приманках через 6 месяцев хранения при температуре -20°C составил $4,5 \lg \text{MICLD}_{50}/\text{мл}$.

Проверка на поедаемость приманок проводилась на 10 белых мышах массой от 18–23 г. Для этого после суточного голодания мышам были даны образцы приманки массой 20 г. Мыши полностью съели приманку в течение 24 ч. Поедаемость оказалась удовлетворительной.

Проверку иммунологической эффективности опытного образца приманки проводили на лисицах весом 6–8 кг в зверохозяйстве Сенненского района Витебской области. В опыте использовались 7 лисиц: одна дикая

и 6 клеточных животных. До проведения иммунизации у шести лисиц был произведен забор крови для получения сыворотки для исследования на наличие антирабических антител. Для забора крови использовали вакуумные пробирки с активатором свертывания крови. После суточного голодания двум лисицам были скормлены по 10 приманок для определения ее безвредности, а остальным, включая дикую лисицу, по одной приманке. Момент поедания приманок лисицами был заснят фотокамерой. Поедаемость была удовлетворительная. Наблюдение за вакцинированными животными проводили в течение 25 суток. За время проведения опыта за животными было установлено ежедневное наблюдение.

У подопытных животных в течение срока наблюдения каких-либо отклонений от нормы не обнаружилось. После окончания опыта от иммунизированных животных повторно были получены сыворотки крови для сравнительного анализа на наличие антирабических антител. Исследования по определению антирабических антител проводили в реакции иммуноферментного анализа. Титр антител у животных, получивших по одной приманке, был выше 0,5 МЕ/мл, а у животных, получивших по 10 приманок, титр антирабических антител составил в среднем в пределах 3,5 МЕ/мл. От дикой красной лисицы получить сыворотку крови оказалось невозможным.

Для определения срока хранения опытного образца биопрепарата изготовленные вакциносодержащие приманки хранили в замороженном состоянии при -20°C в течение шести месяцев. После истечения срока хранения из трех приманок была приготовлена суспензия по разработанной нами методике, протитрована на белых мышах. Титр вируса бешенства в приманках составил $4,6 \lg \text{MICLD}_{50}/\text{см}^3$.

Таким образом, изготовленная сухая антирабическая вакциносодержащая приманка при комнатной температуре в течение 5 суток сохраняет форму и консистенцию, выдерживает давление груза не менее 15 кг, т. е. ударопрочна при разбрасывании из самолета.

Поедаемость и безвредность изготовленных вакциносодержащих приманок для лабораторных и целевых животных является удовлетворительной.

Титр антирабических антител у иммунизированных целевых животных, получивших по одной приманке, был выше 0,5 МЕ/мл, а у животных, получивших по 10 приманок (десятикратную дозу), составил в среднем 3,5 МЕ/мл.

В вакциносодержащих приманках при температуре хранения -20°C в течение шести месяцев титр вируса практически не снижается и составляет $4,6 \lg \text{MICLD}_{50}/\text{мл}$.

Литература и источники

1. *Инактивированная вакцина для профилактики бешенства у животного* : пат. ВУ 12751 / Н. А. Ковалёв, П. И. Уласович, М. М. Усень, Д. В. Бучури. – Оpubл. 30.12.2009.
2. *Постэкспозиционная химиовакцинопрофилактика бешенства в Республике Беларусь* / Н. А. Ковалёв [и др.] // Ветеринарная наука производству. – 2007. – Вып. 39. – С. 141–151.
3. *Perrin, P.* An experimental rabies vaccine produced with a new BHK-21 suspension cell culture presses: use of serum-free medium and perfusion-reactor system / P. Perrin // *Vaccine*. – 1995. – Vol. 13, № 13. – P. 1244–1250. doi:10.1016/0264-410x(94)00022-f. PMID:8578811
4. *Perez, O.* Paolazzi Production methods for rabies vaccine / O. Perez // *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*. – 1997. – Vol. 18. – P. 340–347.
5. *Safety studies of oral rabies vaccine SAD B19 Striped Skunk* // A. Vos [et al.] // *Journal of Wildlife Diseases*. – 2002. – Vol. 38, № 2. – P. 428–431.
6. *Vaccination against rabies: construction characterization of SAG2, a double a virulent derivate of SAD* // F. Lafey [et al.] // *Coulon Vaccine*. – 1994. – Vol. 12, № 4. – P. 317.
7. *Селимов, М. А.* Бешенство / М. А. Селимов. – М. : Медицина, 1978. – 336 с.
8. *Перспективы использования штамма ТС-80 вируса бешенства для пероральной иммунизации животных* // Е. М. Хрипунов [и др.] // *Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и зооантропонозными болезнями животных* : сб. ст. – Покров, 2000. – С. 88–90.
9. *Испытание иммуногенности и безвредности вирусвакцины против бешенства орального применения* / В. В. Михалишин // *Нейроинфекции* : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Покров, 2001. – С. 34–36.
10. *Primary multiplication site of vaccinia-rabies glycoprotein recombinant virus administered to fox by the oral route* // T. Thomas [et al.] // *Journal of General Virology*. – 1990. – Vol. 71. – P. 37–42.
11. *Вакцина для пероральной иммунизации плотоядных животных против бешенства и способ приготовления вакцин* : а. с. № 1120701 / Н. А. Ковалёв, Т. Л. Сорокина, Э. В. Ивановский, Д. Ф. Осидзе, А. С. Шашенко, В. П. Давиденко. – Заявл. 01.12.1982.

Е. П. Баборенко,

кандидат биологических наук

Н. Д. Балахнин,

аспирант

Д. А. Бирюченков,

кандидат ветеринарных наук

А. А. Фроловцева,

кандидат ветеринарных наук

*Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ»),
г. Владимир, Российская Федерация*

ПАРВОВИРУСНАЯ БОЛЕЗНЬ СВИНЕЙ И ЕЕ КОМПЛЕКСНАЯ ПРОФИЛАКТИКА

Резюме. Парвовирусная инфекция свиней – контагиозное вирусное заболевание, экономический ущерб от которого довольно велик, так как состоит из падежа больных животных, потерь, связанных с нарушением репродуктивной функции свиноматок: аборт-ами, рождением мертвых и нежизнеспособных поросят, гибелью до 80–100 % поросят, полученных от больных свиноматок вскоре после рождения. Для данной болезни характерно отсутствие клинических признаков у свиноматок до случного периода и стационарность. Осуществление профилактических мероприятий, в том числе вакцинации, наравне с ведением в свиноводческих хозяйствах планомерной систематической диагностической работы, способно препятствовать распространению парвовирусной инфекции свиней, снизить экономический ущерб и создать возможность корректировать проводимые мероприятия для эффективного искоренения заболевания. Диагностически значимым считается исследование проб сывороток крови от поросят до приема молозива, молодняка 3,0–4,5-месячного возраста, не вакцинированного против парвовирусной инфекции, а также от свинок и свиноматок, отобранных через 1 и 4 недели после патологического опороса.

Ключевые слова: парвовирусная инфекция свиней, серомониторинг, реакция торможения гемагглютинации (РТГА).

Summary. Porcine parvovirus infection is a contagious viral disease, which causes a significant economic damage killing the sick animals and resulting in reproductive failures in sows, i. e. abortions, stillborn piglets, death in juvenile animals soon after birth. The disease is characterized by the absence of clinical signs in sows prior to mating and by a stationary phase. Various prophylactic measures, including vaccination and regular diagnostic tests on pig farms, may prevent the spread of porcine parvovirus infection, reduce economic losses and provide good options to correct measures for effective disease control. It is diagnostically significant to test sera

from piglets before they receive colostrum; from young animals at the age of 3,0–4,5-months old that are not vaccinated against PPV and from gilts and sows (taken 1 and 4 weeks after the pathological farrowing).

Keywords: porcine parvovirus infection, seromonitoring, hemagglutination inhibition test (HI test).

Парвовирусная инфекция свиней (ПВИС) – контагиозное вирусное заболевание, вызывающее репродуктивную патологию и не относящееся к особо опасной группе инфекционных болезней. Однако в ассоциации с такими заболеваниями, как репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС), болезнь Ауески, а также ряда бактериальных инфекций, она наносит значительный экономический ущерб свиноводству. В настоящее время болезнь зарегистрирована в 37 странах мира [1].

Явным клиническим признаком данной инфекции является проявление патологии репродуктивной функции у свиноматок в период супоросности. В помете, полученном от больных животных, присутствуют как мумифицированные и мертворожденные, так и здоровые живые поросята.

Вирус передается респираторным и оральным путями, размножается, как правило, в кишечнике свиней и, попадая во внешнюю среду с фекалиями, в среднем за 3–4 месяца поражает все поголовье животных в стаде. Причиной такой ситуации в первую очередь является высокая способность выживания вируса во внешней среде, а также сохранение инфекционных свойств при воздействии большинства дезинфектантов.

Кроме этого, заболевание может заноситься в хозяйство с зараженными животными, в том числе племенными, и (или) с инфицированной спермой, а также с необеззараженными продуктами убоя больных свиней. Вдобавок передача парвовирусной инфекции может иметь место во время ветеринарных обработок, при несоблюдении правил асептики и антисептики сотрудниками хозяйств [2].

В хозяйствах, где парвовирусная инфекция появилась впервые, наблюдаются массовые прохолосты свиноматок, оплодотворяемость снижается до 25–37 %, а мертворождаемость зачастую достигает 100 % пометов. Среди новорожденных встречаются слепые поросята с различными формами уродства. У свиноматок регистрируют аборт, рождение мумифицированных плодов, эндометриты, маститы и агалактию [3].

На ранней стадии супоросности инфекция может привести к эмбриональной смерти и последующей реабсорбции жидкостей и мягких тканей, а с 35-го дня возможна мумификация мертвого плода. К 70-му дню супоросности плоды уже обладают некоторой иммунной системой и могут противостоять инфекционному процессу. Обычно в зараженном помете не все плоды поражаются одинаково, иногда наблюдается мумификация только у отдельных плодов, остальные поросята в помете могут выжить [4, 5].

Для данного заболевания характерна стационарность. В стационарно неблагополучных по ПВИС хозяйствах у основных свиноматок типичными признаками является численное уменьшение приплода, до 12 % пометов живыми и мертвыми плодами, до 7 % мертворожденных и 1–4 % муффицированных плодов [4].

При возникновении болезни в благополучных хозяйствах рождение живых поросят на одну свиноматку в год снижается в 2,0–2,5 раза [6, 7].

Таким образом, ПВИС наносит значительный экономический ущерб свиноводческим предприятиям, складывающийся из многих составляющих, в том числе из недополучения приплода, утраты племенной ценности свиноматок, снижения качества продукции, падежа и уничтожения животных и др. Учитывая тот факт, что у переболевших свиноматок наблюдается долговременное нарушение репродуктивной функции, а поросята проявляют большую чувствительность к болезни, то может потребоваться полная замена продуктивного поголовья в хозяйстве. Своевременно и грамотно проведенные профилактические ветеринарные мероприятия не только предотвращают появление болезни, но и уменьшают затраты на лечение животных. Эффективность специфической профилактики парвовирусной инфекции определяется рядом факторов, и выбор вакцинного препарата всегда должен производиться в соответствии с эпизоотической ситуацией в данном хозяйстве.

В российских свиноводческих предприятиях применяются как продукция зарубежных компаний MSD Animal Health, Boehringer Ingelheim, Zoetis, HIPRA, так и вакцины отечественных производителей – ФКП «Армавирская биофабрика», ООО «Ветбиохим» и ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Помимо вакцинации, профилактика ПВИС включает множество других мер, к которым относится и своевременная клиническая диагностика с обязательным лабораторным подтверждением. Для диагностики ПВИС в лабораторной практике наряду с молекулярными и вирусологическими методами широко применяют серологический – реакция торможения гемагглютинации (РТГА). Данный метод с успехом можно использовать для серологического мониторинга при эпизоотологическом обследовании хозяйства и как контрольный тест для изучения иммунного фона у вакцинированного свиноголовья (напряженность иммунитета).

Для объективной серологической диагностики парвовирусной инфекции в РТГА необходимо правильно подойти к пробоотбору. Для этого отбирают сыворотки крови от поросят до приема молозива, от невакцинированного против ПВИС молодняка 3,0–4,5-месячного возраста, а также от свиноматок через 1 и 4 недели после патологического опороса.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводится многолетний серологический мониторинг ПВИС как в целях оценки напряженности стадного поствакцинально-

го иммунитета, так и для выявления неблагополучия путем обнаружения специфических к ПВИС антител у непривитого поголовья.

За период с 2015 по 2020 г. методом РТГА исследовано 124 748 проб сывороток крови свиней с целью определения специфических антител к ПВИС (табл. 1). В работе использовали набор для серодиагностики парвовирусной инфекции свиней в реакции торможения гемагглютинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Таблица 1. Результаты серологических исследований обнаружения специфических антител к ПВИС, проводимых в ФГБУ «ВНИИЗЖ» за 2015–2020 гг.

Год	Общее количество исследованных проб	Количество		
		серопозитивных проб, %	субъектов РФ	хозяйств
2015	24 653	86,6	41	92
2016	27 089	75,2	38	65
2017	30 000	89,5	36	70
2018	22 300	87,5	32	85
2019	11 040	89,3	25	54
2020	9 666	79,6	17	32

Очевидно, что процент выявленных положительных проб находился в пределах от 75,2 до 89,5. Во всех обследованных хозяйствах были животные, сероположительные к ПВИС. Уровень серопозитивности в обследованных регионах находился в диапазоне от 40,6 до 100 %, что обусловлено в первую очередь возрастной группой животных, от которых отбирались пробы сывороток крови.

Многочисленные лабораторные исследования и постоянный серологический мониторинг в свиноводческих хозяйствах, где применяется вакцина, свидетельствуют о том, что для успешной профилактики и борьбы с ПВИС иммунизировать следует взрослых свиней перед осеменением и в обязательном порядке 2,0–2,5-месячных поросят, так как к этому возрасту материнские антитела ($7,0 \log_2$) не предохраняют поросят от инфицирования парвовирусом.

Анализ многолетних данных серологического мониторинга показал наличие ряда проблем, где основной является несоблюдение схемы вакцинации, особенно игнорирование иммунизации свиней группы риска. К данной группе относятся поросята от 30 до 70-суточного возраста, в сыворотке крови которых значение титра колоэстральных антител снижается до $4,0–5,0 \log_2$ и, как следствие, не может предохранять их от инфицирования возбудителем ПВИС. В конечном счете поросята заражаются парвовирусом, о чем свидетельствует положительная динамика уровня специфических антител у невакцинированных животных. Очевидно, что в таких случаях даже двукратная вакцинация ремонтного поголовья свиней (име-

ющих уровень антител $8,0 \log_2$ и выше) не принесет ожидаемого результата, т. е. образование напряженного поствакцинального иммунного фона в стаде. В такой ситуации свинки случного периода и первой половины супоросности остаются мишенью для парвовирусной инфекции.

Таким образом, необходимо отметить, что для эффективных профилактических мероприятий и борьбы с ПВИС в стаде необходимо прививать согласно инструкции не только хряков, ремонтных свинок и свиноматок перед каждой очередной случкой, но и обязательно поросят в период отъема. Своевременная двукратная вакцинация поросят-отъемышей против ПВИС способствует формированию напряженного иммунитета вплоть до достижения ими 8–9-месячного возраста. Ремонтные свинки таких групп, иммунизированные двукратно за 2 недели до осеменения, приносят полноценный приплод, о чем свидетельствуют многолетние данные эпизоотологического мониторинга. Также следует учитывать, что специфические антитела к парвовирусу после первичной вакцинации накапливаются медленно и в диагностически значимом титре (не ниже $8,0 \log_2$) появляются к 18–21-м суткам. Серологические исследования сывороток крови различных половозрастных групп свиней для определения уровня специфических антител к парвовирусу за период с 2018 по 2020 г. представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты серологических исследований по определению специфических антител к ПВИС в 2018–2020 гг.

Группа животных	Значение титра антител, $\log_2$	Количество положительных проб, %
Свиноматки	$10,85 \pm 1,2$	93,0
Хряки	$10,44 \pm 1,7$	76,2
Ремонтный молодняк	$9,16 \pm 0,7$	86,5
Группа дорашивания	$8,45 \pm 1,2$	64,7
Группа откорма	$8,23 \pm 1,5$	44,3

Традиционно наибольшее количество серопозитивных проб выявляли среди репродуктивного поголовья, наименьшее – среди поросят групп дорашивания (после элиминации у них материнских антител и завершения колострального иммунитета) и откорма.

Результаты многочисленных серологических исследований показали, что как в свиноводческих предприятиях, применяющих вакцинацию поголовья против ПВИС, так и в хозяйствах с невакцинируемыми сероположительными животными наличие проб сывороток крови с титром антител в РТГА более чем $12,0 \log_2$ свидетельствует об уровне постинфекционных антител. Такая ситуация обычно наблюдается среди хряков и свиноматок на подсосе.

Анализ полученных данных дает основание предположить, что в хозяйствах, где не проводится иммунизация поросят в период отъема, к мо-

менту осеменения (случки) большинство ремонтного молодняка (до 90 %) имеет контакт с полевым вирусом (заражается), о чем свидетельствуют серопозитивные результаты исследований. В таких случаях вакцинация свиней случного возраста запаздывает, и прививка инфицированных животных не способна предотвратить поражения плодов, о чем свидетельствует большое число патологических родов в группе первородящих свиноматок.

Кроме того, практика быстрого отказа от применения вакцины часто приводит к росту числа патологий репродуктивной системы у свиноматок, гибели поросят, что косвенно свидетельствует о продолжающейся циркуляции в стаде возбудителя данного заболевания. При выявлении массовых нарушений репродуктивной функции свиноматок необходимо провести исследование сывороток крови всего поголовья животных в хозяйстве на наличие специфических антител к вирусу ПВИС. Периодическое прерывание или длительное отсутствие вакцинации хряков-производителей и свиноматок против ПВИС также приводит к неоднородному иммунному статусу животных, что способствует циркуляции возбудителя в стаде, а в дальнейшем – клиническому проявлению заболевания.

Установлено, что в хозяйствах, где проводится регулярная иммунизация животных, соблюдаются схемы вакцинации, клинические проявления болезни практически не наблюдаются, а у восприимчивого свиноголовья формируется напряженный поствакцинальный иммунитет. Так, при исследовании сывороток крови от ремонтных свинок, свиноматок I и II половины супоросности, а также подсосных свиноматок выявляли показатели уровня специфических антител к парвовирусу: $9,67 \log_2$, $10,65 \log_2$, и $10,47 \log_2$ соответственно. Данный уровень антител свидетельствует об однородном иммунном фоне против ПВИС в стаде и благополучии хозяйств по этой инфекции.

Таким образом, ПВИС широко распространена в свиноводческих хозяйствах Российской Федерации и других стран мира. В то же время проведение профилактических мероприятий, в том числе вакцинации, наравне с ведением в свиноводческих хозяйствах планомерной систематической диагностической работы (с соответствующей коррекцией схемы проводимой иммунизации) способно препятствовать распространению парвовирусной инфекции свиней, снижать экономический ущерб и создавать возможность искоренения заболевания.

Литература

1. Байбиков, Т. З. Парвовирусная инфекция свиней / Т. З. Байбиков, Е. К. Долганова, С. Г. Ерофеев // Аграрная Россия. – 2001. – № 3. – С. 49–51.
2. Байбиков, Т. З. Инфекционные болезни свиней, протекающие с нарушениями репродуктивной функции, и их профилактика / Т. З. Байбиков, С. А. Кукушкин, А. М. Рах-

манов // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения профессора В. А. Акатова. – Воронеж : Истоки, 2009. – С. 55–58.

3. *Факторные инфекции свиней* / А. Г. Шахов, А. И. Ануфриев, П. А. Ануфриев // Животноводство России : спец. выпуск по свиноводству. – 2005. – С. 24–27.

4. *Иммунобиологический статус свиноматок в зависимости от возраста и сроков супоросности* / А. Г. Шахов [и др.] // Вестник РАСХН. – 2003. – № 2. – С. 69–72.

5. Zeeuw, E. J. L. Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts / E. J. L. Zeeuw [et al.] // Gen Virol. – 2007. – Pt. 2. – P. 420–427.

6. *Diseases of Swine*/ ed. B.E. Straw [et al.]. – 9th ed. – Ames, Iowa : Blackwell Publishing, 2006. – 1143 p.

7. Liu, G. Reduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome-Associated Clinical Symptoms by Virus-Like Particle Vaccine Against Porcine Parvovirus and Porcine Circovirus Type 2 / G. Liu [et al.] // Viral Immunol. – 2020. – Pt. 33 (6). – P. 444–456.

УДК 619:57.088.6:636.2

О. С. Попова,

кандидат ветеринарных наук, доцент

ФГБОУ ВО СПбГУВМ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

ПРОБЛЕМА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И СТРАТЕГИИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Резюме. Повышение антибиотикорезистентности микроорганизмов является одной из актуальных и нерешенных проблем борьбы с патогенными бактериями. Причина этого явления связана с длительным использованием одних и тех же препаратов в медицине и ветеринарии, при лечении человека и животных, а также с быстрой адаптируемостью микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Ключевые слова: антибиотики, аффинность, бактерии.

Summary. Increasing the antibiotic resistance of microorganisms is one of the urgent and unresolved problems in the fight against pathogenic bacteria. The reason for this phenomenon is associated with the long-term use of the same drugs in medicine and veterinary medicine, in the treatment of humans and animals, as well as the rapid adaptability of microorganisms to antimicrobial drugs.

Keywords: antibiotics, affinity, bacteria.

Современные антибактериальные препараты представляют самую большую группу фармацевтических препаратов, включающую 16 классов соединений. Однако следует признать, что данная проблема устойчивости к ним микроорганизмов прогрессирует и ее клиническое значение проявляется не только в снижении эффективности терапии и необходимости разработки новых антимикробных средств, но и в возникновении болезней,

вызванных антибиотикорезистентными патогенными бактериями (VRE, VRSA, ESBL и др.) со сравнительно высокой летальностью. Существенную роль в этом сыграло то, что под действием антропогенных факторов, связанных с применением антибиотиков с середины XX в. в медицине, и особенно в сельском хозяйстве, механизмы резистентности значительно эволюционировали, при этом существенно сократилось время появления устойчивости к новым препаратам.

Следовательно, антибиотикорезистентность является одной из наиболее актуальных проблем современности, определяющей уровень эффективности гуманной и ветеринарной медицины в настоящее время и перспективу их развития в будущем. Несмотря на целевые инвестиции в научные исследования, направленные на решение данной проблемы, она прогрессирует, что указывает на необходимость активизации поисковых исследований и критической оценки методических подходов к поиску инновационных решений.

На кафедре фармакологии и токсикологии разработан проект, который направлен на решение задач, поставленных в таких программных документах, как Стратегия национальной безопасности Российской Федерации (утвержденная Указом Президента Российской Федерации от 2 июля 2021 г. № 400) [1], Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» (утвержденная Распоряжением Правительства от 25 сентября 2017 г. № 2045-р) [2], Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу (утвержденные Указом Президента Российской Федерации от 11 марта 2019 г. № 97) [3], положения Политической декларации заседания высокого уровня Генеральной Ассамблеи по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам, принятой на 71-й сессии Генеральной ассамблеи ООН (резолюция A/RES/71/3 от 5 октября 2016 г.) [4], и Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам, принятый на 68-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (резолюция WHA 68.7 от 26 мая 2015 г.) [5].

Развитие и эволюция резистентности обусловлены интенсивным использованием антибиотиков, однако недавние исследования показали, что помимо антибиотиков увеличению аффинности могут способствовать и другие «неантибиотические» факторы, такие как антибактериальные агенты, тяжелые металлы, химические добавки, фармацевтические препараты и даже природные факторы [6, 7]. В экологической среде существуют различные факторы, влияние на распространение лекарственной устойчивости которых нельзя игнорировать. Тот же уровень урбанизации оказывает воздействие на резистентность к тетрациклину; интенсификацию

ведения сельского хозяйства и суточные биоритмы антибиотикорезистентности [8].

Разработанный нами проект включает в себя рассмотрение не только бактерий и их механизм действия, но и макроорганизм, то есть как эндогенная среда влияет на формирование будущей аффинности к антибиотикам. Как правило, существует два способа развития резистентности у бактерий, а именно внутренняя резистентность и приобретенная резистентность, последняя из которых чаще встречается в окружающей среде. Мутация ДНК, вертикальный перенос генов (VGT) и горизонтальный перенос генов (HGT) способствуют возникновению и распространению устойчивости к антибиотикам [7].

При этом сами пищевые добавки, которые используются для улучшения вкуса, качества и повышения эффективности производства, могут привести к серьезной опасности для здоровья человека и животных. Четыре широко используемых некалорийных подсластителя для человека, включая сахарин и аспартам, помогают паре «донор – реципиент» преодолеть филогенетические барьеры и значительно облегчают перенос конъюгативных плазмид не только от экзогенной кишечной палочки к филогенетически близким бактериям (например, *Salmonella*) и филогенетически далеким бактериям (включая *Acinetobacter* и *Staphylococcus*), а также усиливают колонизацию плазмид в мочевыводящих путях человека [9].

Количество бактерий, нечувствительных к антибиотикам, с каждым годом растет. Основным механизмом данной проблемы является чрезмерное или серьезное неправильное использование антибиотиков. Несмотря на эту возникающую глобальную угрозу антибиотики по-прежнему широко используются не только для лечения инфекций человека, но и в значительной степени в сельском хозяйстве.

По мнению большинства авторов, основными стратегиями, позволяющими не перейти в ближайшее время в «постантибиотическую эру», являются:

1. Использование углеводно-модифицированных соединений в качестве альтернативы антибиотикам (различные антибиотики сегодня основаны на углеводах, либо они содержат часть гликана в своей структуре, либо они нацелены на фермент или рецептор, который связан с углеводным обменом).

2. Внедрение природных антибиотиков.

3. Фенотипическая конверсия лекарственно-устойчивых бактерий в лекарственно-чувствительные бактерии (рекомендация).

4. Бактериофаговая терапия как альтернатива антибиотикам.

Таким образом, бактериальные заболевания занимают значительную долю в общей патологии животных и негативно влияют на качество получаемой от них продукции [6, 9, 10]. Несмотря на большое количество ре-

шений проблемы аффинности, каждый из вышеперечисленных методов имеет свои плюсы и минусы, и внедрение их не может быть быстрым по ряду причин. Обязательным является изучение резервуаров окружающей среды, среды самого организма, влияния пестицидов и тяжелых металлов на формирование антибиотикорезистентности.

Литература и источники

1. *О Стратегии национальной безопасности Российской Федерации* [Электронный ресурс] : Указ Президента Российской Федерации, 2 июля 2021 г., № 400 // Официальный интернет-портал правовой информации (pravo.gov.ru). – Режим доступа: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/47046>. – Дата доступа: 01.06.2023.

2. *Об утверждении Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года* [Электронный ресурс] : Распоряжение Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г., № 2045-р // Официальный интернет-портал правовой информации (pravo.gov.ru). – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201710030067?rangeSize=20>. – Дата доступа: 01.06.2023.

3. *Об Основах государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу* [Электронный ресурс] : Указ Президента Российской Федерации от 11 марта 2019 г., № 97 // Официальный интернет-портал правовой информации (pravo.gov.ru). – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201903110045>. – Дата доступа: 01.06.2023.

4. *Политическая декларация* заседания высокого уровня Генеральной Ассамблеи по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам [Электронный ресурс] : одобр. резолюцией A/RES/71/3 на 71-й сессии Генер. Ассамблеи, 5 октября 2016 г. // Организация Объединенных Наций / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: [9789244509760-rus.pdf\(who.int\)](http://9789244509760-rus.pdf(who.int)). – Дата доступа: 01.06.2023.

5. *Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам* [Электронный ресурс] : одобр. резолюцией WHA 68.7 на 68-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения, 26 мая 2015 г. // Организация Объединенных Наций / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: [9789244509760-rus.pdf\(who.int\)](http://9789244509760-rus.pdf(who.int)). – Дата доступа: 01.06.2023.

6. Кучинский, М. П. Антибиотикорезистентность при терапии мастита у коров [Электронный ресурс] / М. П. Кучинский, И. И. Кузьминский, Е. А. Степанова // Экология и животный мир. – 2022. – № 1. – С. 45–50. – Режим доступа: <https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-1-45-50>. – Дата доступа: 01.06.2023.

7. Molecular mechanisms of antibiotic resistance / J. M. A. Blair [et al.] // Nature reviews microbiology. – 2015. – Т. 13. – № 1. – С. 42–51.

8. Ларцева, Л. В. Экологическая и биологическая опасность резистентности условно-патогенной микрофлоры к антибиотикам (обзор) / Л. В. Ларцева, О. В. Обухова, А. Н. Бармин // Российский журнал прикладной экологии. – 2015. – № 4 (4). – С. 47–52.

9. *Augmented dissemination of antibiotic resistance elicited by non-antibiotic factors*. Ecotoxicology and Environmental Safety [Electronic resource] / Z. Shuyao [et al.]. – 2023. – Vol. 262. – P. 115–124. – Mode of access: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115124>. – Date of access: 01.06.2023.

10. Супотницкий, М. В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М. В. Супотницкий // Биопрепараты. – 2011. – № 2. – С. 4–44.

Д. С. Борисовец,

кандидат ветеринарных наук, доцент

И. В. Насонов,

доктор ветеринарных наук, профессор

Т. А. Зуйкевич,

кандидат сельскохозяйственных наук

Н. В. Зинина,

кандидат биологических наук

С. М. Якубовский,

научный сотрудник

А. Е. Осипенко,

младший научный сотрудник

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелецкого,
г. Минск, Республика Беларусь*

ОТРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ЖЕЛТОЧНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МЕТОДОМ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ КУР

Резюме. В статье представлены данные по разработке метода получения трансовариальных иммуноглобулинов для создания ветеринарных биопрепаратов нового поколения. В процессе исследований определен оптимальный состав и соотношение антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур, проведен подбор адъювантов и иммуностимуляторов для повышения выработки трансовариальных иммуноглобулинов, отработана оптимальная схема гипериммунизации кур для получения трансовариальных иммуноглобулинов, разработан и применен простой и высокопроизводительный метод выделения желточных иммуноглобулинов.

Ключевые слова: иммуноглобулины, антигены, титры, куры.

Summary. The article presents data on the development of a method for obtaining transovarian immunoglobulins for the creation of veterinary biological products of a new generation. In the process of research, the optimal composition and ratio of antigens of viruses and bacteria for hyperimmunization of chickens was determined, adjuvants and immunostimulants were selected to increase the production of transovarial immunoglobulins, the optimal scheme of hyperimmunization of chickens to obtain transovarian immunoglobulins was worked out, and

a simple and high-performance method for the isolation of yolk immunoglobulins was developed and applied.

Keywords: immunoglobulins, antigens, credits, chickens.

Введение. При современном выполнении мер профилактики, ветеринарные врачи сельскохозяйственных организаций сталкиваются со случаями низкой эффективности проводимых ветеринарно-санитарных мероприятий. Использование антибиотиков, сульфаниламидов и других противомикробных средств не всегда дает положительный эффект лечения и профилактики, так как отчетливо наблюдается тенденция выраженной лекарственной устойчивости полевых штаммов бактерий. При этом, несмотря на выполняемые меры по срокам ожидания после применения химиотерапевтических препаратов, проблема наличия остаточных количеств антимикробных средств в получаемой животноводческой продукции остается весьма актуальной.

На этом фоне у животных, особенно у молодняка, в массовых масштабах проявляются пневмоэнтериты, вызванные вирусом диареи, инфекционного ринотрахеита, рота- и коронавирусами с последующим наслоением условно-патогенной микрофлоры, что приводит к снижению сохранности поголовья, прироста живой массы и эффективности проводимых в хозяйстве ветеринарных мероприятий.

На сегодняшний день нет универсальных средств, обладающих широким спектром противоинфекционного действия и высокой эффективностью для лечения и профилактики заболеваний у молодняка крупного рогатого скота при желудочно-кишечных инфекциях, вызванных вирусом диареи, инфекционного ринотрахеита, рота- и коронавирусами.

Перспективной в данном направлении является разработка препаратов на основе специфических иммуноглобулинов, способных образовывать комплексы «антиген – антитело» с наиболее распространенными возбудителями энтеритов с последующей их нейтрализацией и выведением из организма [1].

Одними из таких иммуноглобулинов являются иммуноглобулины, выделяемые из желтка вакцинированных кур – IgY (yolk immunoglobulin). Данные антитела можно получать в большом количестве неинвазивным способом, что делает кур поставщиком недорогих специфических антител. Антитела могут быть введены перорально в различных формах: яичный порошок, полученный в распылительной сушилке, водорастворимая фракция желтков или очищенные IgY [2–5, 10].

В практическом аспекте такие свойства IgY, как его высокая концентрация в желтке, неспособность связывать белки А и G, активировать систему комплемента и интерферировать с IgG млекопитающих, привели к разра-

ботке так называемой IgY-технологии – альтернативе традиционному методу получения поликлональных антител на животных [6–9].

Использование IgY для пассивной иммунизации имеет отличительные преимущества по сравнению с IgG млекопитающих:

- возможность получения большого количества антител (от одной курицы за месяц можно получить в 15–17 раз больше иммуноглобулинов, чем от одного кролика). По разным данным [5], желток куриного яйца содержит IgY в высокой концентрации (8–20 мг/мл). Это обусловлено легким переходом сывороточных антител в белок яйца, находящегося в яичнике, далее происходит активный перенос и аккумуляция IgY в желточном мешке;

- IgY-антитела обладают в 5 раз большим сродством к конкретному антигену и реагируют быстрее, чем IgG млекопитающих;

- выделение IgY происходит через бескровный физиологический процесс (кладка яиц), тогда как для извлечения IgG необходимо кровопускание, из-за чего животное испытывает боль;

- IgY не взаимодействуют ни с компонентами комплемента, ни с ревматоидным фактором, ни с Fc-рецепторами клеток млекопитающих. Кроме того, расходы на содержание птиц значительно ниже, чем на содержание крупных млекопитающих (лошадей, ослов, мулов, коров), часто используемых для пассивной иммунизации.

Указанные преимущества IgY-технологий создают необходимость более широкого применения птичьих антител в научных исследованиях, диагностике и иммунотерапии инфекционных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных [1].

Целью данной работы является отработка оптимального способа получения желточных иммуноглобулинов методом гипериммунизации кур.

Материалы и методы. Работа выполнялась на базе отдела вирусных инфекций и отдела болезней птиц и пчел РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», вивария института.

Был определен оптимальный состав антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур-несушек.

Исходя из полученных данных, для гипериммунизации кур-несушек были отобраны следующие штаммы, депонированные в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского»: штамм вируса диареи крупного рогатого скота «КМИЭВ-V120» – РНК-содержащий, штамм коронавируса крупного рогатого скота «КМИЭВ-V122» – РНК-содержащий, штамм вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота «КМИЭВ-V123» – ДНК-геномный, штамм ротавируса крупного рогатого скота «КМИЭВ-V116» – РНК-содержащий, штаммы бактерий *Escherichia coli* с адгезивными антигенами K88 (F4), K99 (F5), A20 (F17).

В связи с тем, что вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, рота- и коронавирусы для кур обладают низкой иммуногенностью, проведены исследования по подбору адъювантов и иммуностимуляторов для повышения уровня антител в крови и соответственно в желтке.

Для этого подобраны адъюванты нового поколения Montanide ISA 61 VG, Montanide IMS 1313 VG, Montanide GEL 01, которые способствуют формированию длительного иммунитета.

В качестве антигенной части для смешивания с адъювантами использовали антиген вируса диареи крупного рогатого скота с титром инфекционной активности $6,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, инактивированный теотропином в 0,2%-й концентрации в течение 48 ч.

Для проведения экспериментов было сформировано 5 групп кур-несушек (4 опытных и одна контрольная), по 3 головы в каждой, которых иммунизировали по следующей схеме: 1-я группа – антиген вирусной диареи, смешанный с Montanide ISA 61 VG в соотношении по массе 50 : 50, в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 14 суток; 2-я группа – антиген вирусной диареи, смешанный с Montanide GEL 01 в соотношении 80 : 20, в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 14 суток; 3-я группа – антиген вирусной диареи, смешанный с Montanide IMS 1313 VG в соотношении по массе 50 : 50, в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 14 суток.

В связи с тем, что Montanide ISA 61 VG показан для применения с многокомпонентными вакцинами, была сформирована 4-я группа кур, которых вакцинировали смесью антигенов вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавируса и адъюванта в соотношении по массе 50 : 50 в аналогичных дозах.

Пятой группе вводили физиологический раствор согласно общепринятой методике.

Схему гипериммунизации кур-несушек отрабатывали с использованием в качестве тест-культуры вируса диареи крупного рогатого скота.

С этой целью было сформировано 7 групп кур-несушек (6 опытных и 1 контрольная), по 3 особи в возрасте 147 дней и старше, которых иммунизировали по следующей схеме:

1-я группа – антигеном вируса диареи в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы трехкратно с интервалом 10–14 суток;

2-я группа – антигеном вируса диареи в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 10–14 суток;

3-я группа – антигеном вируса диареи с адъювантом Montanide IMS 1313 VG в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы трехкратно с интервалом 10–14 суток;

4-я группа – антигеном вируса диареи с адъювантом Montanide IMS 1313 VG в объеме 0,5 см³ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 10–14 суток;

5-я группа – антигеном вируса диареи и иммуностимулятором (липополисахарид *Bacillus subtilis*) в концентрации 30 мкг/кг веса в объеме 0,5 см³ внутримышечно в область грудной мышцы трехкратно с интервалом 10–14 суток;

6-я группа – антигеном вируса диареи и иммуностимулятором (липополисахарид *Bacillus subtilis*) в концентрации 30 мкг/кг веса в объеме 0,5 см³ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 10–14 суток;

7-я группа – физиологическим раствором хлорида натрия в объеме 0,5 см³ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 10–14 суток.

Через 14 суток после последнего введения у кур были отобраны пробы крови из подкрыльцовой вены и яйца с целью определения наличия антител к вирусу диареи в реакции нейтрализации, отработан способ получения желточных иммуноглобулинов из яиц.

Наличие птичьих иммуноглобулинов (IgY) во фракции выделяемых иммуноглобулинов определяли прямым методом иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) с использованием коммерческих кроличьих антикуриных IgG, конъюгированных с пероксидазой хрена. Анализ проводили следующим образом: микротитрующие планшеты на 96 лунок покрывали иммуноглобулинами путем последовательного разведения фракции иммуноглобулинов каждого образца с шагом, равным 2, в карбонатно-бикарбонатном буфере (100 мМ) при pH 9,6. Планшеты выдерживали в течение ночи при температурном режиме 4 °С. Далее планшеты трижды промывали фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1%-й раствор (w/v) детергента Tween 20. Для блокировки неспецифической сорбции кроличьих конъюгатов IgG использовали 1%-й раствор альбумина бычьего сывороточного. Связавшиеся конъюгаты проявляли тетраметилбензином в присутствии перекиси водорода. Оптические плотности ферментативной реакции регистрировали при 450 нм.

Результаты и их обсуждение. При проведении опытов по определению оптимального соотношения антигенов вирусов и бактерий для гипериммунизации кур-несушек было установлено, что наиболее оптимальной является схема иммунизации кур-несушек с использованием монокомпонентов вирусов и бактерий, применение которой приводило к выработке специфических антител в организме птицы в титре – 5,0–8,0 log₂, что на 2,0–5,0 log₂ выше в сравнении с сочетанным введением антигенов.

В ходе осуществленных исследований по подбору адъювантов и иммуностимуляторов для гипериммунизации кур-несушек были получены результаты, которые приведены в табл. 1.

Таблица 1. Определение оптимальных адъювантов и иммуностимуляторов для гипериммунизации кур-несушек

Группа животных	Антиген	Титры антител в РНГА и РА, $\log_2$
Опытная группа № 1	ВД + ISA 61 VG	$4,33 \pm 0,33$
	ВД + ISA 61 VG + ЛПС	$5,0 \pm 0$
Опытная группа № 2	ВД + IMS 1313 VG	$5,67 \pm 0,33$
	ВД + IMS 1313 VG + ЛПС	$6,0 \pm 0$
Опытная группа № 3	ВД + GEL 01	$4,67 \pm 0,33$
	ВД + GEL 01 + ЛПС	$5,5 \pm 0,5$
Опытная группа № 4	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG (антитела к ИРТ)	$4,33 \pm 0,33$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG (антитела к ВД)	$4,0 \pm 0$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG (антитела к PB)	$4,0 \pm 0,58$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG (антитела к KB)	$4,67 \pm 0,33$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG + ЛПС (антитела к ИРТ)	$4,5 \pm 0,5$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG + ЛПС (антитела к ВД)	$4,0 \pm 0$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG + ЛПС (антитела к PB)	$4,0 \pm 0$
	ИРТ + ВД + PB + KB + ISA 61 VG + ЛПС (антитела к KB)	$4,5 \pm 0,5$
Контрольная группа	—	0

По итогам проведенных исследований по подбору адъювантов и иммуностимуляторов для гипериммунизации кур-несушек установлено, что наиболее оптимальным адъювантом для гипериммунизации кур-несушек является Montanide IMS 1313 VG (опытная группа № 2), применение которого приводило к выработке специфических антител в организме птицы в титре – $5,67 \log_2$, что на $1,0$ – $1,67 \log_2$ выше в сравнении с адъювантами Montanide GEL 01 и Montanide ISA 61 VG.

Применение в качестве иммуностимулятора бактериального липополисахарида, выделенного из *Bacillus subtilis*, приводило к повышению титра противовирусных антител на $0,17$ – $0,83 \log_2$.

Результаты опытов по отработке схемы гипериммунизации кур-несушек представлены в табл. 2.

Таблица 2. Отработка схемы гипериммунизации кур-несушек*

Группа животных	Схема иммунизации	Титр антител в РН, $\log_2^*$
Опытная группа № 1	ВД трехкратно	$4,0 \pm 0$
Опытная группа № 2	ВД четырехкратно	$4,33 \pm 0,33$
Опытная группа № 3	ВД + IMS 1313 VG трехкратно	$5,5 \pm 0,5$

Группа животных	Схема иммунизации	Титр антител в РН, $\log_2^*$
Опытная группа № 4	ВД + IMS 1313 VG четырехкратно	$5,67 \pm 0,33$
Опытная группа № 5	ВД + ЛПС трехкратно	$4,33 \pm 0,33$
Опытная группа № 6	ВД + ЛПС четырехкратно	$4,67 \pm 0,67$
Контрольная группа	Физиологический раствор четырехкратно	0

* Достоверность $P \leq 0,001$.

В ходе проведения исследований по отработке схемы гипериммунизации кур-несушек было установлено, что наиболее выраженный прирост титра специфических антител к вирусу диареи наблюдался в 4-й опытной группе при введении антигена вируса диареи с адъювантом Montanide IMS 1313 VG четырехкратно, который составлял $5,67 \log_2$. При введении вируса диареи в виде монокомпонента и в комплексе с липополисахаридом титр антител был на $1-1,67 \log_2$ ниже. Трехкратное введение каждого из компонентов приводило к снижению титра противовирусных антител на $0,17-0,34 \log_2$.

Далее в работе нами был разработан и применен простой и высокопроизводительный метод выделения желточных иммуноглобулинов, не требующий дорогостоящего оборудования. В основу разработанного метода положен принцип жидко-жидкостного фазного разделения липидной и белковой фракций яичных желтков с использованием смеси органических растворителей.

Выход иммуноглобулинов составил 80–100 мг из одного яйца.

Закключение. Наиболее оптимальной является иммунизация кур-несушек с использованием монокомпонентов вирусов и бактерий, которая приводила к выработке специфических антител в организме птицы в титре – $5,0-8,0 \log_2$, что на $2,0-5,0 \log_2$ выше в сравнении с сочетанным введением антигенов.

Наилучшим адъювантом для гипериммунизации кур-несушек является Montanide IMS 1313 VG, применение которого приводило к выработке специфических антител в организме птицы в титре – $5,67 \log_2$. Применение в качестве иммуностимулятора бактериального липополисахарида, выделенного из *Bacillus subtilis*, приводило к повышению титров противовирусных антител на $0,17-0,83 \log_2$.

Оптимальной схемой гипериммунизации кур-несушек является схема, включающая введение антигенов вирусов и бактерий в виде монокомпонентов с адъювантом Montanide IMS 1313 VG в объеме $0,5 \text{ см}^3$ внутримышечно в область грудной мышцы четырехкратно с интервалом 10–14 суток, что способствует повышению уровня специфических антител на $1,0-1,67 \log_2$.

Разработан метод выделения трансовариальных иммуноглобулинов из яйца кур-несушек, который способствует получению очищенной иммуноглобулиновой фракции в количестве 80–100 мг иммуноглобулинов из одного яйца.

Литература

1. Каплин, В. С. IgY-технологии в медицине. Желточные антитела птиц в иммунотерапии / В. С. Каплин, О. Н. Каплина // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2016. – № 4. – С. 59–75.
2. Akita, E. M. Comparison of four purification methods for the production of immunoglobulins from eggs laid by hens immunized with an enterotoxigenic *E. coli* strain / E. M. Akita, S. Nakai // J. Immunol. Methods. – 1993. – Vol. 160. – P. 207–214.
3. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): a review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine / R. Schade [et al.] // Altern. Lab Anim. – 2005. – Vol. 33. – P. 129–154.
4. Chicken egg yolk antibodies, production and application : IgY-Technology / R. Schade [et al.]. – Berlin : Springer Lab Manuals, 2001. – 267 p.
5. De Meulenaer, B. Isolation and purification of chicken egg yolk immunoglobulins: a review / B. de Meulenaer, A. Huyghebaert // Food Agricult. Immunol. – 2001. – № 13. – P. 275–288.
6. Development and immunochemical evaluation of antibodies Y for the poorly, immunogenic polypeptide prothymosin alpha / P. Klimentzou [et al.] // Peptides. – 2006. – № 27. – P. 183–193.
7. Gene gun-supported DNA immunisation of chicken for straightforward production of poxvirus-specific IgY antibodies / P. T. Witkowski [et al.] // J. Immunol. Methods. – 2009. – Vol. 341. – P. 146–153.
8. Monitoring of laying capacity, immunoglobulin Y concentration, and antibody titer development in chickens immunized with ricin and botulinum toxins over a two-year period / D. Pauly [et al.] // Poultry Science. – 2009. – № 88. – P. 281–290.
9. Polson, A. Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens / A. Polson, M. B. von Wechmar, M. H. van Regenmortel // J. Immunol. Commun. – 1980. – № 9. – P. 475–493.
10. The crystal structure of an avian IgY-Fc fragment reveals conservation with both mammalian IgG and IgE / A. I. Taylor [et al.] // Biochemistry. – 2009. – № 48. – P. 558–562.

Н. У. Каримова,

докторант

К. Х. Гоибназаров,

докторант

А. Г. Гафуров,

доктор ветеринарных наук, профессор

*Научно-исследовательский институт ветеринарии,
г. Тайлак, Самаркандская обл., Республика Узбекистан*

СПОСОБ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ПИРОПЛАЗМОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *PIROPLASMA BIGEMINUM*

Резюме. В статье изложены результаты исследований по разработке нового способа криоконсервации возбудителя пироплазмоза *P. bigeminum* на основе местного сырья, не требующего дорогостоящих оборудования и реактивов.

Ключевые слова: криоконсервация, возбудитель, разработка, сырье, оборудование, пироплазмоз, реактивы.

Summary. The article presents the results of a study on the development of a new method for cryopreservation of the causative agent of piroplasmosis *P. bigeminum* based on local raw materials that does not require expensive equipment and reagents.

Keywords: cryopreservation, pathogen, development, raw materials, equipment, piroplasmosis, reagents.

Введение. Разработка способа криоконсервации возбудителя пироплазмоза *Piroplasma bigeminum* имеет важное значение при создании криобанка, у которого свои критерии биологических характеристик штаммов, что важно при заражении животных в экспериментальных опытах, а также для создания биологических препаратов.

При разработанном В. Т. Заблоцким способе криоконсервации возбудителя пироплазмоза [1–3] кровь от инвазированных животных замораживают с использованием криоконсерванта диметилсульфоксида (ДМСО) или химически чистого глицерина поэтапно в низкотемпературном холодильнике со скоростью 1 °С в минуту до температуры –70 °С, затем отпускают на жидкий азот в сосуде Дьюара при температуре –196 °С. Таким образом сохраняются биологические свойства возбудителя.

В связи с тем, что известный метод криоконсервации возбудителя пироплазмоза *P. bigeminum* требует дорогостоящего оборудования и реактивов, которые производятся за рубежом, разработка более бюджетного способа, основанного на местном сырье, является актуальной задачей.

Целью исследований является разработка высокоэффективного способа криоконсервации возбудителя пироплазмоза *P. bigeminum*, не требующего дорогостоящих оборудования и реактивов, основанного на местном сырье.

Материалы и методы. Разработка была осуществлена путем замены химически чистого глицерина или ДМСО на желток куриного яйца. В качестве криопротектора вместо ДМСО или глицерина на 50 мл сыворотки крупного рогатого скота добавляли один желток куриного яйца, тщательно перемешивали, затем добавляли 50 мл инвазированной пироплазмой крови (2–3 % пораженности эритроцитов паразитами), перемешивали, после чего разливали во флаконы объемом 20 мл и оставляли при комнатной температуре на 20 мин для проникновения криопротектора (желток куриного яйца) в клетки паразита и нейтрализации водяных кристаллов. После этого готовый криоматериал размещали в низкотемпературном холодильнике (температура –70 °С). Таким образом осуществляли криоконсервацию возбудителя пироплазмоза новым способом с использованием местного сырья, стоящего в десятки раз дешевле прототипа.

Опыты по изучению биологической активности и патогенных свойств криогенизированных *P. bigeminum* ставили на животных в возрасте 9–10 месяцев (12 голов). Животных разделили на 4 группы, по 3 головы в каждой.

Для проведения опытов криоматериал извлекали из низкотемпературного холодильника, размораживали на водяной ванне при температуре +39–40 °С. Затем животных заражали полученным криоматериалом в дозе по 20 мл подкожно: 1-ю группу – через 1 месяц после криоконсервации, 2-ю группу – через 6 месяцев, 3-ю группу – через 12 месяцев, 4-ю группу – через 24 месяца. У подопытных животных ежедневно измеряли температуру тела и проводили паразитологические исследования.

В результате проведенных исследований установили, что после заражения криоконсервированным материалом у всех подопытных животных на 11–13-й день заражения повысилась температура тела в пределах 40,4–40,9 °С, наблюдалась потеря аппетита, анемия и гемоглобинурия (см. рис. 1). В мазках, взятых из периферической крови, пораженность эритроцитов пироплазмами составляла 3–4 % (см. табл.; рис. 2).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что биологическая активность криоконсервированных возбудителей *P. bigeminum* сохранялась в течение 24 месяцев после криоконсервации новым способом.



Рис. 1. Гемоглинурия при пироплазмозе

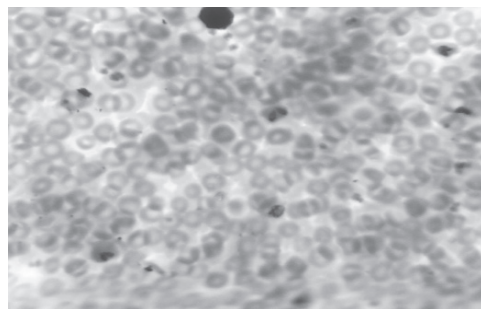


Рис. 2. Паразитемия при пироплазмозе

Патогенные свойства криогенизированной *P. bigeminum*

Группа	Количество животных	Способ заражения подопытных животных криогенным штаммом <i>P. bigeminum</i>	Результат
1	3	Через 1 месяц после криоконсервации в дозе по 20 мл подкожно	На 11–12-й день после заражения проявились клинические признаки пироплазмоза и паразитемии (см. рис. 2)
2	3	Через 6 месяцев после криоконсервации в дозе по 20 мл подкожно	На 11–12-й день после заражения проявились клинические признаки пироплазмоза и паразитемии
3	3	Через 12 месяцев после криоконсервации в дозе по 20 мл подкожно	На 12–13-й день после заражения проявились клинические признаки пироплазмоза и паразитемии
4	3	Через 24 месяца после криоконсервации в дозе по 20 мл подкожно	На 13–14-й день после заражения проявились клинические признаки пироплазмоза и паразитемии

Закключение. Разработан новый метод криоконсервации возбудителя пироплазмоза крупного рогатого скота *P. bigeminum* с применением местного сырья, не требующий дорогостоящих реактивов и оборудования, простой в использовании.

Патогенные свойства возбудителя пироплазмоза крупного рогатого скота при использовании нового способа криоконсервации сохраняются 24 месяца (срок наблюдения).

Литература

1. Заблоцкий, В. Т. Способ криоконсервации возбудителя пироплазмоза / В. Т. Заблоцкий // Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии. – М., 1974. – С. 50–52.

2. Степанова, Н. И. Иммунопрофилактика тейлериоза крупного рогатого скота / Н. И. Степанова, В. Т. Заблоцкий, З. П. Мутузкина // Ветеринария. – 1987. – № 3. – С. 69–70.

3. Гоибназаров, К. Х. Криоконсервация возбудителя тейлериоза *Theileria annulata* крупного рогатого скота в Узбекистане / К. Х. Гоибназаров // Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 100-летию Института экспериментальной ветеринарии им С. Н. Вышеселеского, Минск, 15–16 сентября 2022 г. – Минск, 2022. – С. 309–311.

УДК 619.616.993.192.615

Н. У. Каримова,

докторант

А. Г. Гафуров,

доктор ветеринарных наук, профессор

*Научно-исследовательский институт ветеринарии,
г. Тайлак, Самаркандская обл., Республика Узбекистан*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «ИМКАР-120» ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПИРОПЛАЗМОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. Лечение пироплазмоза крупного рогатого скота препаратом «Имкар-120» производства компании «Бровафарма» в дозе 2,0 мл на 100 кг живой массы животных малоэффективно, в то время как применение его в дозе 3,0 мл обладает высокой терапевтической эффективностью.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, Имкар-120, пироплазмоз, терапия, эффективность.

Summary. Treatment of piroplasmosis in cattle with «Imkar-120», produced by Brova-farma, at a dose of 2,0 ml per 100 kg of live weight animals is ineffective, while its use in a dose of 3,0 ml has a high therapeutic efficacy.

Keywords: cattle, Imkar-120, piroplasmosis, therapy, efficiency.

Введение. Пироплазмоз крупного рогатого скота распространен повсеместно на территории Республики Узбекистан и наносит огромный урон животноводству. Экономический ущерб заключается в падеже больных животных, потере продуктивности и расходах на проведение ветеринарно-санитарных мероприятий.

Пироплазмоз является сезонным заболеванием, зависит от активной фазы клещей-переносчиков *B. calcaratus*, которые передают инвазию в стадии личинки на 2–3-й день после присасывания к телу животного (см. рисунок). После этого на 9–11-й день у животных наблюдаются высокая температура тела, угнетенное состояние, гемоглобинурия и паразитемия.



Заклещеванность *B. calcaratus*

Необходимо отметить, что антипротозойные препараты у нас в республике не производятся, а поступающие из-за рубежа препараты обладают сомнительной эффективностью для местных условий и штаммов. При определении эффективности рекомендуемый препарат обогащает арсенал лечебных препаратов.

В связи с этим **целью** наших исследований являлось изучение лечебной эффективности препарата «Имкар-120» при пироплазмозе крупного рогатого скота и подготовка рекомендаций для ветеринарной практики.

Материалы и методы. Опыты проводили на экспериментально зараженных животных, которых заражали кровью, взятой от больных пироплазмозом животных. Опыты на спонтанно больных животных проводили в производственных условиях. Для паразитологических исследований брали мазки из периферической крови и окрашивали по методу Романовского – Гимзы, оценивали наличие паразитов и процент пораженности эритроцитов. Препарат вводили подкожно в дозе по 2,0 и 3,0 мл на 100 кг живой массы животных.

Опыты по изучению лечебной эффективности препарата «Имкар-120», производимого украинской компанией «Бровафарма», при пироплазмозе крупного рогатого скота проводили на 9 головах крупного рогатого скота. Подопытных животных разделили на 3 группы, по 3 головы в каждой. Их заразили кровью, взятой от остробольного животного при паразитарной реакции 4 % пораженности эритроцитов пироплазмами. В течение 21 дня проводили клинические и паразитологические исследования. На 9–11-й день заражения у животных всех групп подопытных проявились клинические признаки пироплазмоза и паразитемии. После этого животных 1-й группы лечили «Имкар-120» в дозе по 2,0 мл на 100 кг живой массы животных, животных 2-й группы – в дозе по 3,0 мл, 3-я группа служила для контроля.

Результаты исследований. Установлено, что у подопытных животных, к которым применяли препарат «Имкар-120» в дозировке 2,0 мл на

100 кг живой массы, общее состояние немного улучшилось, температура тела снизилась до 40,3 °С, паразитарная реакция – до 2 %. У животных 2-й группы (дозировка препарата по 3,0 мл) на следующий день лечения общее состояние нормализовалось, паразитарная реакция снизилась до минимума (см. таблицу).

**Лечебная эффективность препарата «Имкар-120»
при пироплазмозе крупного рогатого скота**

Группа	Клинические признаки	Способ лечения, дозировка	Результат лечения		Эффективность препарата
			2-й день после лечения	3-й день после лечения	
1	Температура 40,6–40,8 °С, общее состояние – угнетенное, анемия слизистых оболочек, гемоглобинурия	2,0 мл на 100 кг живой массы	Температура 40,2–40,3 °С, общее состояние слегка улучшилось	Температура 40,2–40,3 °С, общее состояние слегка улучшилось	Слабая
2	Температура 40,6–40,8 °С, общее состояние – угнетенное, анемия слизистых оболочек, гемоглобинурия	3,0 мл на 100 кг живой массы	Температура 39,4–39,5 °С, общее состояние улучшилось	Температура 39,4–39,5 °С, общее состояние улучшилось	Достаточно высокая

Общее состояние контрольных животных в то же время ухудшилось, увеличилась паразитемия.

Закключение. Проведенные исследования дают основание сделать вывод, что применение препарата «Имкар-120» в дозировке 2,0 мл на 100 кг живой массы животных маллоэффективно, а лечение препаратом в дозировке 3,0 мл имеет выраженный эффект.

Литература

1. Гафуров, А. Г. Распространение пироплазмидозов в Зарафшанской долине / А. Г. Гафуров // Ветеринария. – 1996. – № 3. – С. 17–18.
2. Имомов, Н. Эффективность лечения тейлериоза бутачем и тейлекса / Н. Имомов // Зооветеринария. – 2010. – № 12. – С. 22–24.
3. Гафуров, А. Г. Ветеринария протозоология / А. Г. Гафуров, Р. Б. Давлатов, Ў. И. Расулов. – Самарканд, 2013. – 120 с.
4. Расулов, Ў. И. Эффективность лечения тейлериоза тейлерсаном / Ў. И. Расулов, А. Г. Гафуров // Ветеринарная медицина. – 2018. – № 9. – С. 21–23.

Т. Я. Мясцова,

кандидат ветеринарных наук, доцент

Н. Ю. Щемелёва,

кандидат ветеринарных наук, доцент

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВОПАРАЗИТАРНОГО ПРЕПАРАТА «ЭПРИНОВЕТ»

Резюме. Среднесмертельная доза ветеринарного препарата при однократном внутривентрикулярном введении для белых мышей составляет 4250 мг/кг. При скармливании препарата с кормом среднесмертельную дозу установить не представилось возможным, так как максимально введенная доза составила 15 тыс. мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 комплексный препарат относится к веществам, умеренно опасным, т. е. к 3-му классу опасности. Препарат не оказывает раздражающего воздействия на слизистые оболочки и кожные покровы лабораторных животных; не обладает алергизирующими свойствами; не имеет отрицательного влияния на организм кроликов. Биохимические показатели у опытных животных коррелировали с таковыми у контрольных кроликов.

Ключевые слова: кролики, белые мыши, морские свинки, крупный рогатый скот, овцы, кровь, сыворотка крови.

Summary. The average lethal dose of a veterinary drug with a single intragastric injection for white mice is – 4250 mg/kg. When feeding the drug with feed, it was not possible to establish an average lethal dose, since the maximum dose administered was 15000 mg/kg. According to GOST 12.1.007-76, the complex preparation belongs to moderately dangerous substances, i. e. to the 3rd hazard class. The drug does not have an irritating effect on the mucous membranes and skin of laboratory animals. It does not have allergenic properties. Does not have a negative effect on the body of rabbits. Biochemical parameters in experimental animals correlated with those in control rabbits.

Keywords: rabbits, white mice, guinea pigs, cattle, sheep, blood, blood serum.

Введение. В настоящее время к качеству животноводческой продукции предъявляются все более высокие требования, а следовательно, и к защите животных от паразитарных болезней. Несмотря на проведение противопаразитарных мероприятий гельминтозы жвачных животных в хозяйствах республики встречаются [4]. Длительное применение одних и тех же антигельминтиков приводит к развитию резистентных штаммов гельминтов. Для предупреждения развития резистентности гельминтов к антигельминтикам необходимо иметь широкий ассортимент противопаразитарных препаратов [1, 2, 5]. Разработка нового противопаразитарного препарата

и использование его в ключевые периоды цикла развития нематод и паразитирования (нападения) эктопаразитов – чесоточных клещей, иксодовых клещей, оводов, блох, вшей, мелофагов и др., позволит значительно снизить экстенсивность инвазии у животных и ограничить контаминацию окружающей среды. Предотвращение паразитирования иксодовых клещей на животных способствует профилактике ряда трансмиссивных заболеваний, таких как анаплазмоз, бабезиоз и пироплазмидоз. За последние 20 лет температура воздуха в Беларуси возросла на 0,5–1,2 °С, что создает благоприятные условия для развития паразитических нематод и членистоногих.

Использование данного препарата позволит предотвратить потери продуктивности у сельскохозяйственных животных, сэкономить денежные средства на лечении целого ряда болезней, особенно в пастбищный период.

Данный препарат имеет основное преимущество в том, что его можно применять к дойному стаду, так как молоко после применения эприновета можно использовать в пищу без ограничения.

Цель – создание экологически приемлемого препарата, обладающего широким спектром действия, высокой эффективностью, что позволит освободить животных от гельминтов и эктопаразитов, и как следствие, сохранить и получить животноводческую продукцию высокого качества.

Материалы и методы. Определение острой токсичности препарата проводили на белых мышах согласно Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии [3]. Расчет среднесмертельной дозы (LD_{50}) препарата проводили по Г. Н. Першину. Было сформировано 8 групп белых мышей, клинически здоровых, по 7 голов. Из них 7 опытных групп и 1 контрольная группа. Препарат мышам задавали внутрижелудочно однократно в виде суспензии на 1%-м крахмальном клейстере.

Препарат вводили внутрижелудочно однократно мышам 1–7 опытных групп в дозах 1000 мг/кг, 1500, 2000, 3000, 5000, 7000 и 8000 мг/кг, мышам контрольной группы вводили 1%-й крахмальный клейстер в объеме 0,5 мл.

Клиническое наблюдение за мышами вели в течение 14 дней. Учитывали общее состояние мышей, поедаемость корма, двигательную активность, состояние шерстного покрова.

Изучение хронической токсичности препарата проводили на клинически здоровых белых мышах весом 21–28 г.

Для определения хронической токсичности было сформировано 4 группы мышей, по 7 голов в каждой. Мышам 1-й группы суспензию препарата задавали в дозе 425,0 мг/кг, равной $1/10 LD_{50}$, мышам 2-й группы – в дозе 212,0 мг/кг, равной $1/20 LD_{50}$, мышам 3-й группы – 85,0 мг/кг, равной $1/50 LD_{50}$, мышам 4-й группы вводили 1%-й крахмальный клейстер в дозе 0,5 мл/гол. Суспензию препарата мышам задавали натошак внутрижелу-

дочно ежедневно в течение трех дней. Кормление и поение животных проводили через 3,5–4 ч после дачи препарата. Клиническое наблюдение за состоянием мышей вели в течение 14 дней после последнего введения препарата, при этом учитывали общее состояние, состояние шерстного покрова, степень поедаемости корма, наличие жажды и др. клинические признаки.

Определение раздражающего действия эприновета на слизистые оболочки проводили методом конъюнктивальной пробы на 3 кроликах массой 2,0–2,5 кг.

Сенсибилизирующие свойства эприновета определяли методом кожных аппликаций на 3 морских свинках массой 320–350 г. Сенсибилизацию проводили ежедневными аппликациями раствора эприновета на 96%-м этаноле в дозе 0,1 мл на один и тот же участок кожи в течение 14 дней. Затем после 14-дневного перерыва с момента последней аппликации на свежевыстриженные участки кожи с противоположной стороны наносили разрешающую дозу препарата в том же количестве.

Для изучения влияния комплексного препарата на организм были сформированы 3 группы кроликов – 2 опытные и 1 контрольная группы, по три головы в каждой. Кроликам 1-й группы применили с кормом препарат в дозе 10 мг/кг, 2 группы – в дозе 50 мг/кг внутрь один раз в день в течение трех дней подряд. Исследование крови проводили до начала применения препарата и через 7, 14, 21 и 28 дней после скармливания эприновета. Для гематологических исследований кровь стабилизировали 5%-м раствором лимоннокислого натрия. Для получения сыворотки после свертывания крови, сыворотку сливали в пробирки и центрифугировали при 3 тыс. об/мин в течение 15 минут. Сыворотку разливали в пробирки Эппендорфа и хранили при температуре –18°C до исследования. Гематологические исследования проводили на анализаторе «Mythic 18» и биохимические – на Avtolyser.

Результаты исследований. При изучении острой токсичности эприновета было установлено, что первые признаки интоксикации у мышей 3–5-й групп появлялись через 30–40 минут. Основной падеж мышей в группах 2–4 наблюдался в первые сутки после введения препарата (см. табл. 1). Токсическое действие препарата проявлялось в отсутствии активных движений, отказа от корма, тяжелого и частого дыхания, взъерошенности и влажности шерстного покрова и гибели.

Тяжесть клинического состояния белых мышей зависела от дозы препарата. При вскрытии павших мышей отмечали следующие основные изменения: печень кровенаполнена, темно-вишневого цвета, кровоизлияния в почках и печени.

Расчет среднесмертельной дозы препарата при внутрижелудочном введении показал, что она составляет 4250 мг/кг.

**Таблица 1. Результаты проведения опыта по изучению острой токсичности
препарата при внутрижелудочном введении**

Номер группы	Доза, мг/кг	Кол- во, гол.	День наблюдений, гол.								Общее число, гол.	
			1-й		2-й		3-й		4–14-й			
			выжило	пало	выжило	пало	выжило	пало	выжило	пало	выжило	пало, гол/%
1	1000	7	7	0	7	0	7	0	7	0	7	0/0
2	1500	7	7	0	7	0	7	0	7	0	7	0/0
3	2000	7	7	0	6	1	6	0	6	0	6	1/14,28
4	3000	7	5	2	5	0	5	0	5	0	5	2/28,57
5	5000	7	4	3	2	2	2	0	2	0	2	5/71,43
6	7000	7	2	5	1	1	1	0	1	0	1	6/85,71
7	8000	7	2	5	0	2	–	–	–	–	7	0/100
Контрольная	–	7	7	–	7	–	7	–	7	–	7	–

В связи с тем, что эприновет планируется применять к крупному рогатому скоту внутрь с кормом, провели скормливание препарата белым мышам с половинной дозой корма в утреннее кормление в дозах: 1-й группе (по 7 гол.) – 10 тыс. мг/кг, 2-й группе – 15 тыс. мг/кг, группа контроля препарат не получала. Мыши 1-й группы неохотно поедали корм, но съедали весь корм, тогда как мыши 2-й группы в течение 3 ч не могли съесть весь корм с препаратом. Дальнейшее увеличение дозы не имело смысла, так как животные отказывались принимать корм с препаратом.

Таким образом, среднесмертельная доза препарата при внутрижелудочном введении составляет 4250 мг/кг. При скормливании с кормом среднесмертельную дозу установить не представилось возможным, так как максимально введенная доза составила 15 тыс. мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 ветеринарный препарат «Эприновет» относится к веществам, умеренно опасным, т. е. к 3-му классу опасности.

Изучение хронической токсичности препарата на белых мышах показало, что после каждого введения препарата и в течение всего периода наблюдений у мышей всех опытных и контрольной групп отклонений в клиническом состоянии от физиологической нормы отмечено не было, т. е. все животные были активны, охотно поедали корм, жажда отсутствовала, шерстный покров оставался гладким и блестящим.

Таким образом, в хроническом опыте установлено, что препарат «Эприновет» не вызывает каких-либо отклонений в клиническом состоянии у мышей от физиологической нормы, получавших препарат в дозах 1/10, 1/20, и 1/50 дозы LD₅₀ в течение трех дней (акт от 12 апреля 2022 г.).

Исследования, проведенные по изучению раздражающего, сенсibilизирующего воздействия на организм, кожу и слизистые оболочки, показав-

ли, что внесение тонко измельченного препарата в дозе 50 мг однократно в конъюнктивальный мешок глаза кроликов вызывало слезотечение и покраснение слизистой оболочки глаза, которое проходило через 20–30 минут. При дальнейшем наблюдении через 24 и 48 ч каких-либо патологических изменений со стороны конъюнктивы и склеры глаза не отмечалось.

При оценке местного раздражающего действия комплексного препарата «Эприновет» на кожные покровы 3 кроликов и 3 морских свинок было установлено, что при нанесении раствора препарата «Эприновет» в дозе 0,1 мл/см² (на 96%-м этиловом спирте) на выстриженный участок кожи признаков гиперемии, отека, шелушения и др. не наблюдалось в течение 16–24 и 48 ч после нанесения препарата.

Клиническое наблюдение за животными вели в течение 14 дней. Общее состояние животных, поедаемость корма были хорошие, сохранялась двигательная активность, состояние шерстного покрова было в норме (акт от 28 апреля 2022 г.).

При изучении сенсibiliзирующих свойств установлено, что после нанесения разрешающей дозы препарата, реакция со стороны кожи и организма животных отсутствовала, изменений в общем клиническом состоянии животных не происходило в течение 3 дней.

Таким образом, комплексный препарат «Эприновет» не обладает раздражающим действием при внесении в конъюнктивальный мешок и нанесении на кожные покровы лабораторных животных и не обладает сенсibiliзирующим свойством.

Изучение влияния комплексного препарата на организм кроликов показало, что в динамике уровня гемоглобина, количества эритроцитов у кроликов всех опытных групп достоверных изменений не прослеживалось по отношению к аналогичным показателям животных контрольной группы.

В табл. 2 приведены результаты исследований по изучению активности ферментов сыворотки крови, свидетельствующих о воздействии препарата «Эприновет» на организм кроликов, в частности на печень.

Таблица 2. Динамика активности ферментов в сыворотке крови кроликов при применении эприновета

Дни исследования	1 группа	2 группа	Контроль
<i>Аспаратаминотрансфераза (U/l)</i>			
До	7,16 ± 0,45	7,60 ± 0,19	7,49 ± 0,95
Через 8 дней	6,81 ± 0,49	6,03 ± 0,21	8,10 ± 0,44
15	9,90 ± 0,40	9,22 ± 0,72	7,44 ± 0,30
22	10,05 ± 0,72	12,46 ± 0,59	7,48 ± 0,09
29	13,83 ± 0,28	12,95 ± 0,68	12,75 ± 0,95

Дни исследования	1 группа	2 группа	Контроль
<i>Аланинаминотрансфераза (U/l)</i>			
До	20,36 ± 1,21	23,00 ± 2,10	18,90 ± 4,98
Через 8 дней	15,93 ± 1,28	14,03 ± 0,72	15,53 ± 2,10
15	26,16 ± 0,55	25,53 ± 1,91	22,38 ± 2,68
22	27,30 ± 2,49	30,9 ± 1,03	26,06 ± 1,07
29	30,43 ± 1,91	24,33 ± 1,62	21,56 ± 1,51
<i>Общий билирубин (мкмоль/л)</i>			
До	3,15 ± 0,03	2,82 ± 0,11	2,53 ± 0,20
Через 8 дней	3,67 ± 0,44	4,17 ± 0,07	3,69 ± 0,26
15	4,36 ± 0,12	3,72 ± 0,15	4,10 ± 0,19
22	3,48 ± 0,12	3,19 ± 0,22	4,29 ± 0,21
29	5,01 ± 0,57	5,97 ± 0,40	6,37 ± 0,72
<i>Гамма-глутамилтрансфераза (U/l)</i>			
До	4,69 ± 0,45	5,52 ± 0,66	7,20 ± 4,51
Через 8 дней	3,82 ± 0,28	9,21 ± 0,24	4,52 ± 0,44
15	5,39 ± 0,68	7,13 ± 0,65	7,94 ± 0,38
22	6,34 ± 0,28	6,47 ± 0,45	7,44 ± 0,59
29	7,06 ± 0,32	8,62 ± 0,61	7,58 ± 0,44
<i>Щелочная фосфатаза (U/l), 4–16</i>			
До	61,30 ± 2,29	98,20 ± 17,81	133,36 ± 15,90
Через 8 дней	67,96 ± 1,66	75,10 ± 3,44	124,00 ± 8,12
15	76,30 ± 2,10	96,56 ± 4,59	141,00 ± 8,23
22	66,23 ± 3,63	72,33 ± 4,59	146,66 ± 8,81
29	53,93 ± 1,70	60,10 ± 1,57	112,76 ± 8,04
<i>Лактатдегидрогеназа (U/l)</i>			
До	397,00 ± 38,31	355,00 ± 24,90	365,00 ± 67,04
Через 8 дней	415,00 ± 22,98	586,33 ± 6,13	450,33 ± 15,13
15	474,30 ± 39,19	642,33 ± 45,97	560,66 ± 16,47
22	593,00 ± 26,81	720,00 ± 28,74	683,33 ± 1,91
29	763,66 ± 30,65	668,66 ± 26,81	755,33 ± 99,61

Из анализа данных табл. 2 следует, что в течение всего периода наблюдений в динамике активности ферментов сыворотки крови не отмечались статистически достоверные изменения.

Трехкратное применение препарата «Эприновет» в терапевтической и пятикратной терапевтической дозах не оказывает влияния на работу поджелудочной железы, так как содержание амилазы в сыворотке крови изменялось недостоверно.

Содержание общего белка в сыворотке крови кроликов в течение всего периода наблюдений находилось в пределах физиологической нормы (табл. 3).

Таблица 3. Динамика общего белка и альбуминов в сыворотке крови кроликов после применения эприновета

День исследования	1 группа – 10 мг/кг	2 группа – 50 мг/кг	Контроль
<i>Общий белок (г/л), 54–75 g/L</i>			
До	29,53 ± 0,24	26,93 ± 0,22	29,30 ± 0,68
Через 8 дней	31,36 ± 0,88	30,80 ± 1,91	33,80 ± 0,42
15	42,90 ± 3,83	38,50 ± 1,16	37,86 ± 1,20
22	38,66 ± 0,86	35,26 ± 1,03	37,96 ± 1,57
29	38,93 ± 1,01	36,56 ± 1,91	35,76 ± 1,91
<i>Альбумины (г/л), 24–46 g/L</i>			
До	13,93 ± 0,51	12,43 ± 0,30	16,26 ± 2,68
Через 8 дней	14,16 ± 0,30	18,56 ± 0,55	15,53 ± 0,32
15	22,11 ± 1,53	20,93 ± 0,74	20,03 ± 0,64
22	18,82 ± 0,24	18,30 ± 1,03	17,50 ± 0,22
29	18,76 ± 0,40	15,50 ± 0,49	19,90 ± 1,55

В поддержании гомеостаза организма определенная роль принадлежит макро- и микроэлементам. В табл. 4 приведены результаты изучения динамики кальция, фосфора, магния, железа и цинка в сыворотке крови кроликов, после применения эприновета в дозах 10 мг/кг и 50 мг/кг массы тела. Содержание микро- и макроэлементов в сыворотке крови кроликов не претерпевало статистически достоверных изменений.

Таблица 4. Динамика содержания макро- и микроэлементов сыворотки крови у кроликов при применении эприновета

День исследований	Кальций, ммоль/л	Медь, мкг/дл	Железо, мкмоль/л	Магний, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Цинк, ммоль/л
Норма	1,4–3,1	86–110	10–17	0,9–1,2	1,3–2,2	80–160
<i>1 опытная группа, доза 10 мг/кг</i>						
До	1,58 ± 0,09	83,4 ± 0,97	11,63 ± 1,30	0,784 ± 0,07	1,03 ± 0,03	157,00 ± 3,39
Через 8 дней	1,76 ± 0,06	82,60 ± 0,55	8,98 ± 1,20	0,821 ± 0,01	0,973 ± 0,05	167,33 ± 5,93
15	2,31 ± 0,14	87,83 ± 1,06	17,33 ± 0,84	1,09 ± 0,08	1,71 ± 0,19	185,00 ± 5,55
22	2,06 ± 0,01	85,23 ± 0,51	11,53 ± 0,40	1,03 ± 0,01	1,36 ± 0,08	187,00 ± 4,59
29	2,01 ± 0,03	83,46 ± 0,47	18,68 ± 1,78	1,10 ± 0,03	1,41 ± 0,10	163,33 ± 8,04
<i>2 опытная группа, доза 50 мг/кг</i>						
До	1,68 ± 0,06	79,83 ± 0,01	10,78 ± 0,070	0,691 ± 0,01	0,944 ± 0,03	133,00 ± 4,59
Через 8 дней	1,96 ± 0,06	84,46 ± 0,63	16,10 ± 0,28	0,976 ± 0,02	1,51 ± 0,06	173,66 ± 9,96

День исследований	Кальций, ммоль/л	Медь, мкг/дл	Железо, мкмоль/л	Магний, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Цинк, ммоль/л
15	1,96 ± 0,03	84,70 ± 0,03	17,21 ± 1,76	1,06 ± 0,05	1,52 ± 0,04	180,66 ± 7,47
22	2,25 ± 0,13	83,43 ± 0,26	11,53 ± 0,49	0,95 ± 0,02	1,30 ± 0,03	167,66 ± 7,67
29	2,11 ± 0,11	83,50 ± 0,51	17,00 ± 1,32	0,963 ± 0,03	1,44 ± 0,05	160,66 ± 13,21
<i>Контрольная группа</i>						
До	1,77 ± 0,15	82,96 ± 0,57	14,76 ± 0,05	0,778 ± 0,07	1,24 ± 0,09	173,66 ± 12,26
Через 8 дней	1,93 ± 0,07	81,43 ± 0,21	11,83 ± 2,29	0,776 ± 0,009	1,17 ± 0,02	173,33 ± 0,95
15	2,19 ± 0,11	84,90 ± 1,14	17,30 ± 3,06	0,924 ± 0,05	1,34 ± 0,04	186,33 ± 8,04
22	2,29 ± 0,16	81,90 ± 0,90	16,04 ± 0,74	0,826 ± 0,07	1,41 ± 0,05	160,33 ± 2,29
29	2,35 ± 0,06	84,70 ± 0,63	18,00 ± 1,45	1,06 ± 0,03	1,39 ± 0,10	153,00 ± 7,67

О положительном влиянии препарата «Эприновет» на организм кроликов свидетельствует и динамика привесов массы тела в течение всего периода наблюдений, представленных в табл. 5. Среднесуточный прирост массы тела у опытных животных 1-й группы составил 33,11 г, 2-й – 35,0 г против 31,0 г в контрольной группе.

Таблица 5. Динамика привесов массы тела у кроликов при применении эприновета

Номер группы	Доза препарата, мг/кг и кратность применения	Средняя масса тела до начала опыта, кг	Средняя масса тела в конце опыта, кг	Привес массы тела за 29 дней, кг	Среднесуточный привес, г
1	10 мг/кг 3 дня	3,2 ± 0,08	4,16 ± 0,13	0,96	33,11
2	50 мг/кг 3 дня	3,23 ± 0,05	4,26 ± 0,03	1,03	35,0
Контроль	Не применяли	2,66 ± 0,07	3,56 ± 0,40	0,90	31,0

Таким образом, ветеринарный препарат «Эприновет» для лечения и профилактики нематодозов и арахноэнтомозов крупного рогатого скота и овец в дозе 10 мг/кг и 50 мг/кг массы тела не оказывает отрицательного влияния на гематологические и биохимические показатели организма кроликов.

Заключение. Среднесмертельная доза препарата при однократном внутривентральном введении для белых мышей составляет 4250 мг/кг. При скармливании препарата с кормом среднесмертельную дозу установить не представилось возможным, так как максимально введенная доза составила

15 тыс. мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 комплексный препарат относится к веществам, умеренно опасным, т. е. к 3-му классу опасности.

Препарат в хроническом опыте не вызывает каких-либо отклонений от физиологической нормы в клиническом состоянии у мышей, получавших препарат в дозах 1/10 (425 мг/кг), 1/20 (212 мг/кг) и 1/50 (85 мг/кг) дозы LD₅.

Препарат «Эприновет» не оказывает раздражающего воздействия на слизистые оболочки и кожные покровы лабораторных животных; не обладает аллергизирующими свойствами; не имеет отрицательного влияния на организм кроликов. Биохимические показатели у опытных животных коррелировали с таковыми показателями у контрольных кроликов.

Литература

1. Даугалиева, Э. Х. Особенности развития резистентности при гельминтозах и ее роль в системе паразит – хозяин / Э. Х. Даугалиева // Вестн. с.-х. науки. – 1984. – № 1. – С. 125–128.
2. Даугалиева, Э. Х. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / Э. Х. Даугалиева, В. В. Филиппов. – М. : ВО «Агропромиздат», 1991. – 189 с.
3. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / НАН Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелевского ; сост. А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
4. Стронгилятозы желудочно-кишечного тракта домашних жвачных животных в Беларуси / М. В. Якубовский [и др.] // Вет. наука – производству : сб. науч. тр. – Вып. 37. – 2005. – С. 196–203.
5. Якубовский, М. В. Резистентность паразитических организмов к препаратам / М. В. Якубовский // Наше сельское хозяйство. – 2010. – № 8. – С. 57–60.

4. НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

УДК 616.33/34-002-084:636.2-053.2.087.7

О. А. Ришко,

соискатель

А. В. Прусаков,

доктор ветеринарных наук, доцент

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ПРОФИЛАКТИКУ НЕОНАТАЛЬНОЙ ДИАРЕИ У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. Цель исследования – установить влияние пробиотических кормовых добавок «ГидроЛактиВ» и «Мультибактерин» на профилактику неонатальной диареи (диспепсии) у молодняка крупного рогатого скота. В ходе исследования было установлено, что применение биокомплекса «Мультибактерин» снижает частоту проявления клинических признаков неонатальной диареи телят в раннем постнатальном периоде в 3,5 раза, а добавление в пищу кормовой добавки «ГидроЛактиВ» – в 1,75 раза. Применение кормовой добавки «ГидроЛактиВ» сокращает сроки выздоровления на 14,29 %, а использование биокомплекса «Мультибактерин» – на 28,57 %. Установлено, что употребление кормовых добавок «ГидроЛактиВ» и «Мультибактерин» способствует повышению продуктивности, выражающейся в увеличении средней массы тела животных и их среднесуточных привесов, а также повышает экономическую эффективность мероприятий при профилактике неонатальной диареи телят.

Ключевые слова: болезни молодняка, крупный рогатый скот, диспепсия, пробиотические добавки.

Summary. The aim of the study was to establish the effect of probiotic feed additives «HydroLactiV» and «Multibacterin» on the prevention of neonatal diarrhea (dyspepsia) in young cattle. During the study it was found that the use of biocomplex «Multibacterin» reduces the frequency of clinical signs of neonatal diarrhea of calves in the early postnatal period by 3,5 times, and the use of feed additive «HydroLactiV» – by 1,75 times. The use of feed additive «HydroLactiV» reduces the recovery time by 14,29 %, and the use of biocomplex «Multibacterin» – by 28,57 %. It is established that the use of feed additives «HydroLactiV» and «Multibacterin» contributes to the increase in productivity, expressed in the increase in the average body weight

of animals and their average daily weight gain, as well as increases the economic efficiency of measures in the prevention of neonatal diarrhea of calves.

Keywords: diseases of young animals, cattle, dyspepsia, probiotic supplements.

Введение. Болезни желудочно-кишечного тракта у молодняка крупного рогатого скота могут поражать от 50 до 100 % всего поголовья телят и стоят на первом месте по частоте возникновения в структуре болезней молодняка крупного рогатого скота в ранний постнатальный период [3]. Заболевание носит полиэтиологический характер и наносит большой экономический ущерб сельскому хозяйству. Для лечения применяются комплекс мер по улучшению условий содержания и кормления животных, противодиарейные препараты, противомикробные препараты, ферменты, витамины [1–3, 6].

В настоящее время в Российской Федерации реализуется Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года, согласно которой вводятся ограничения в применении противомикробных препаратов в сельском хозяйстве. В связи с этим большое внимание ветеринарных специалистов направлено на поиск максимально эффективных методов профилактики и лечения неонатальной диареи телят без использования антибиотиков.

В последние годы пробиотики занимают важное место в арсенале ветеринарных специалистов при выращивании молодняка. Доказаны иммуностимулирующее, противовоспалительное, антидиарейное, ростостимулирующее и другие свойства препаратов данной группы. Особое внимание уделяется положительному влиянию пробиотиков на повышение устойчивости организма молодняка к неблагоприятным факторам внешней среды [1, 3–5].

Учитывая все вышесказанное, нами была поставлена цель – изучить влияние пробиотических кормовых добавок «ГидроЛактиВ» и «Мультибактерин» на профилактику неонатальной диареи телят, сокращение сроков выздоровления, на среднесуточные приросты массы тела и экономическую эффективность мероприятий по профилактике неонатальной диареи телят с использованием пробиотических кормовых добавок.

Материалы и методы. Объектом для проведения исследований послужили новорожденные телята черно-пестрой породы. Из них по принципу аналогов с учетом возраста, массы тела и физиологического состояния были сформированы три группы животных: группа контроля (группа 1) и две подопытные (группа 2 и группа 3). Из двух подопытных групп одна получала кормовую добавку, содержащую лиофилизированные лактобактерии, «ГидроЛактиВ» (группа 2), а вторая – биоконкомплекс на основе симбиотической культуры лактобактерий «Мультибактерин» (группа 3). Каждая группа включала в себя 10 телят. Всего в опыте участвовало 30 животных.

Животные всех групп содержались в идентичных условиях на базовом рационе для выращивания молодняка, принятом в хозяйстве. С четвертого дня жизни до достижения шестидесятидневного возраста телятам всех групп выпаивали кефир, приготовленный с применением ферментативной кормовой добавки «ГастроВет» по схеме, принятой в хозяйстве. С десятидневного возраста животных начинали приучать к грубым кормам путем раскладывания в кормушки сена первого класса и стартерного корма. Дополнительно телятам второй подопытной группы к кефиру добавляли кормовую добавку «ГидроЛактиВ» в дозе 15,0 г на голову два раза в день, а телятам третьей подопытной группы – биокомплекс «Мультибактерин» в дозе 1,0 мл на 10,0 кг массы тела два раза в день. Клиническое состояние животных оценивали исходя из данных их физикального обследования.

Взятие крови у исследуемых животных осуществляли из яремной вены за 30 мин до кормления с соблюдением правил асептики и антисептики. Для проведения гематологических исследований брали цельную кровь с добавлением антикоагулянта (EDTA), для биохимических исследований использовали сыворотку крови. Гематологические исследования проводили общепринятыми методами, сыворотку крови исследовали на полуавтоматическом анализаторе Clima MC-15.

Контрольные взвешивания животных проводили при рождении, а также в возрасте 30, 60, 90 и 180 дней при помощи механических весов.

Результаты исследований. На основании данных амбулаторных журналов хозяйства, в котором проводился опыт, неонатальная диарея телят (диспепсия) у телят в возрасте старше семи дней регистрировалась у 68,0 % от общего поголовья животных. Летальность колебалась в пределах от 1,0 до 1,5 % от общего числа заболевших. Пик заболеваемости, как правило, приходился на восьмой день жизни. Заболевание протекало в легкой форме и характеризовалось угнетенным состоянием животных; температура тела была повышена на 0,2–0,3 °С по отношению к верхней границе нормы; отмечалось снижение аппетита, апатия, уменьшение среднесуточных привесов. Фекалии у больных телят были неоформленные, полужидкой или жидкой консистенции, цвет каловых масс варьировал от светло-коричневого до серого. Запах – от умеренно кислого до гнилостного. Шерстный покров у больных телят, как правило, был тусклый и взъерошенный, кожа и шерсть около анального отверстия испачканы каловыми массами. Выздоровление наступало на 7–8-й день от начала заболевания. Для лечения принимался комплекс мер по улучшению содержания животных, вводились препараты: «Колифлоркс», «Сульфетрисан», сыворотка 9-валентная.

В первый день проведения исследований нами был осуществлен клинический осмотр животных всех групп с отбором проб крови для проведения клинико-биохимического анализа. Было установлено, что все животные,

участвовавшие в исследовании, имели схожий клинико-биохимический статус, что исключало возможные ошибки при проведении исследования и давало возможность достоверной интерпретации полученных результатов. В ходе исследований было отмечено положительное влияние пробиотических кормовых добавок на эритропоз, увеличение концентрации общего белка сыворотки крови в среднем на 9,54 % и снижение активности трансаминаз (АЛТ – в среднем на 17,76 % и АСТ – на 4,96 %) у подопытной группы животных.

В возрасте восьми дней уровень заболеваемости неонатальной диареей у телят, используемых в проведении эксперимента, составил: в контрольной группе – 70,0 %; во второй группе, получавшей кормовую добавку «ГидроЛактиВ» – 40,0 %; в третьей группе, получавшей биокомплекс «Мультибактерин» – 20,0 %. Лечение больных животных осуществлялось согласно схеме, принятой в хозяйстве, летальных исходов не было зафиксировано ни в одной из групп.

Было установлено, что применение пробиотического биокомплекса «Мультибактерин» позволяет снизить уровень заболеваемости диспепсией в возрасте 8 дней в 3,5 раза, а использование пробиотической кормовой добавки «ГидроЛактиВ» – в 1,75 раза. При этом у животных, получавших вышеуказанные добавки, отмечалось более легкое течение данного заболевания.

В подопытных группах на всех этапах эксперимента, исключая период новорожденности, отмечали увеличение средней массы тела животных, по сравнению с контрольной группой телят. Это может быть обусловлено улучшением процессов переваривания и всасывания кормов, а также нормализацией метаболизма благодаря лактобактериям, входящим в состав данных кормовых добавок. Что свидетельствует о положительном влиянии пробиотических кормовых добавок «ГидраЛактиВ» и «Мультибактерин» на данный показатель.

При этом следует отметить, что наиболее значительное увеличение средней массы тела до 30-дневного возраста наблюдалось у животных второй группы, получавших кормовую добавку «ГидроЛактиВ». В дальнейшем, наибольшие темпы увеличения средней массы тела были зафиксированы у животных третьей группы, получавших биокомплекс «Мультибактерин».

В возрасте 180 дней средняя масса тела у животных контрольной группы составила $161,63 \pm 8,81$ кг, у животных второй группы, получавших «ГидроЛактиВ», – $165,00 \pm 4,81$ кг и $170,40 \pm 13,72$ кг – у животных третьей группы, получавших «Мультибактерин». Принимая во внимание, что в начале исследования средняя масса тела животных была примерно одинаковой, можно сделать вывод, что наибольшее положительное влияние на уве-

личение средней массы тела у телят от рождения до 180-дневного возраста оказывает биокомплекс «Мультибактерин».

При расчете экономической эффективности применения кормовых добавок учитывались: уровень заболеваемости телят диспепсией, продолжительность течения заболевания, затраты на лечение. Экономический эффект на рубль затрат, получаемый в результате введения пробиотических кормовых добавок ($\mathcal{E}_p$), определяли по формуле

$$\mathcal{E}_p = \frac{\mathcal{E}_B}{Z_B},$$

где $\mathcal{E}_B$ – экономический эффект, полученный в результате осуществления профилактических, оздоровительных и лечебных мероприятий (руб.); Z_B – затраты на ветеринарные мероприятия (руб.).

По результатам проведенных нами расчетов, экономическая эффективность лечебно-профилактического применения кормовой добавки «ГидроЛактиВ» при диспепсии телят составила 9,29 руб. на рубль затрат, а с использованием биокомплекса «Мультибактерин» – 5,90 руб. на рубль затрат.

Заключение. Пробиотические добавки «ГидроЛактиВ» и «Мультибактерин» снижают частоту возникновения неонатальной диареи (диспепсии) телят в ранний постнатальный период. Уровень заболеваемости диспепсией при использовании биокомплекса «Мультибактерин» уменьшается в 3,5 раза, а при добавлении в пищу пробиотической кормовой добавки «ГидроЛактиВ» – в 1,75 раза. Применение пробиотических кормовых добавок и способствует сокращению сроков выздоровления. Без использования кормовых добавок полное выздоровление животных наступает на 7–8-й день, при применении кормовой добавки «ГидроЛактиВ» – на 6-й день, а при употреблении биокомплекса «Мультибактерин» – на 5-й день от начала заболевания.

С добавлением в пищу кормовых добавок «ГидроЛактиВ» и «Мультибактерин» повышается продуктивность телят, которая выражается в увеличении средней массы тела животных. Так, в контрольной группе телят средняя масса тела составила $161,63 \pm 8,81$ кг. У получавших «ГидроЛактиВ» средняя масса тела составила $165,00 \pm 4,81$ кг, а у животных, получавших биокомплекс «Мультибактерин», – $170,40 \pm 13,72$ кг. Наибольшее положительное влияние на увеличение средней массы тела у телят от рождения до 180-дневного возраста оказывает биокомплекс «Мультибактерин».

Применение пробиотических кормовых добавок повышает экономическую эффективность мероприятий при профилактике неонатальной диареи телят.

Литература

1. *Профилактика* и лечение диспепсии у новорожденных телят / А. Я. Батраков [и др.]. – СПб. : Квадро, 2021. – 56 с.
2. Прусаков, А. В. Диспансеризация животных на объектах сельскохозяйственного назначения : метод. указания по внутренним незаразным болезням животных / А. В. Прусаков, Г. В. Куляков. – СПб. : Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины, 2020. – 20 с.
3. Пудовкин, Д. Н. Болезни молодняка крупного рогатого скота. Практические рекомендации / Д. Н. Пудовкин, С. В. Щепёткина, Л. Ю. Карпенко, О. А. Ришко. – 2-е изд., доп. – СПб. : Изд-во ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2019. – 204 с.
4. Шавров, С. С. Применение пробиотических препаратов при лечении неспецифической диспепсии / С. С. Шавров, А. В. Прусаков // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны : материалы X юбилейной междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной году науки и технологий, Санкт-Петербург, 23–24 ноября 2021 г. – СПб. : Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины, 2021. – С. 391–392.
5. Шавров, С. С. Эффективность применения пробиотика «Бифидум-СХЖ» при лечении диспепсии неспецифической этиологии у молодняка крупного рогатого скота / С. С. Шавров, А. В. Прусаков // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение : материалы междунар. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, 25–26 марта 2021 г. – Брянск : Брянский гос. аграрный ун-т, 2021. – С. 432–436.
6. Щипакин, М. В. Особенности строения многокамерного желудка телят черно-пестрой породы (сообщение второе) / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленовский, А. В. Прусаков // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 3 (25). – С. 103–107.

М. П. Кучинский,

доктор ветеринарных наук, профессор

Г. М. Кучинская,

заведующий отделом токсикологии и незаразных болезней животных

Т. М. Савчук,

научный сотрудник

Е. А. Мицук,

ведущий биолог

*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

ПАРАМЕТРЫ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «МИКРОВИТ SA»

Резюме. В статье приводятся результаты первичной токсикологической оценки на лабораторных животных нового ветеринарного препарата на основе микроэлементов, витаминов и янтарной кислоты «Микровит SA». Исследования выполнены с установлением параметров острой токсичности, подострой токсичности, класса опасности, местного раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаз, кожно-резорбтивного действия и безвредности в тест-дозе.

Результаты исследований показали, что среднесмертельная доза (LD_{50}) препарата «Микровит SA» при подкожном введении белым мышам составляет 4167 мг/кг массы тела. LD_{50} препарата при внутрижелудочном введении белым мышам составляет более 5000 мг/кг массы тела животного, в связи с чем его можно отнести к IV классу опасности (веществу малоопасному). Также установлено, что данный препарат не раздражает кожу и слизистые оболочки глаз кроликов, а также не проявляет кожно-резорбтивного действия на крысах.

Ключевые слова: исследование, токсичность, препарат, микроэлементы, витамины, янтарная кислота, белые мыши, крысы, кролики.

Summary. The article presents the results of the primary toxicological assessment on laboratory animals of a new veterinary drug based on trace elements, vitamins and succinic acid «Microvit SA». The studies were carried out with the establishment of parameters of acute toxicity, subacute toxicity, hazard class, local irritant effect on the skin and mucous membranes of the eyes, skin-resorptive action and harmlessness in the test dose.

The results of the studies showed that the median lethal dose (LD_{50}) of the drug «Mikrovit SA» when administered subcutaneously to white mice is 4167 mg/kg of body weight. The LD_{50} of the drug when administered intragastrically to white mice is more than 5000 mg/kg of animal body weight, and therefore it can be attributed to hazard class IV (substance of low hazard).

It was also found that this drug does not irritate the skin and mucous membranes of the eyes of rabbits, and also does not show a skin-resorptive effect on rats.

Keywords: study, toxicity, drug, trace elements, vitamins, succinic acid, white mice, rats, rabbits.

Введение. Органы и ткани животных состоят из множества клеток, в которых непрерывно протекают сложнейшие метаболические процессы. Каждая клетка обладает свойствами, позволяющими ей не только длительно существовать самой, но и обеспечивать деятельность данного органа или ткани, а также всего организма в целом. Большинство живых клеток способно к длительному существованию, выполнению своих специфических функций, саморегуляции и самовоспроизведению, но для этого в каждую клетку с кровью должны непрерывно поступать в достаточном количестве кислород, а также необходимые сырьевые и энергетические ресурсы. Поэтому от того, как регулярно и в каком количестве необходимые компоненты поступают в клетки, зависит их состав, структура и функциональная деятельность, в том числе активность ферментов цикла Кребса и цепи передачи электронов, участвующих в синтезе АТФ [1].

Многие вещества, участвующие в этом постоянном и сложном процессе, при получении сбалансированного рациона могут образовываться в самом организме. Это касается, например, янтарной кислоты, которая вырабатывается в митохондриях человека, животных, растений и является важным компонентом цикла трикарбоновых кислот [2]. Здоровому организму обычно хватает эндогенных солей янтарной кислоты (сукцинатов) и тех, которые он получает с рационом. Однако при гипоксии, в результате влияния неблагоприятных факторов (нарушение условий содержания, некачественные корма, интенсивные физические нагрузки, стрессы, нарушенный метаболизм и т. д.) возрастает риск развития дефицита янтарной кислоты, поскольку потребность в ней значительно увеличивается. Известно, что в указанных выше условиях дыхательная цепь митохондрий принимает на себя водород преимущественно от янтарной кислоты, следовательно, потребность в ней резко увеличивается. Поэтому дополнительное (экзогенное) поступление янтарной кислоты или сукцинатов может существенно помочь поддержанию и восстановлению жизнедеятельности организма [5].

Достаточно актуальной проблемой является также дефицит или дисбаланс в организме микроэлементов и витаминов, который сопровождается расстройством обмена веществ и проявляется снижением продуктивности и устойчивости к болезням, иммунодепрессией, замедлением роста и развития молодняка, нарушением воспроизводительной способности у взрослых животных и рождением слабого, нежизнеспособного потомства, а также специфической патологией [3].

С учетом вышесказанного нами разработан новый комплексный препарат на основе селена, марганца, цинка, витаминов А, Е и янтарной кислоты.

Цель исследования – первичная токсикологическая оценка нового ветеринарного препарата «Микровит SA», созданного на основе микроэлементов, витаминов и янтарной кислоты.

Материалы и методы. Опыт по изучению острой токсичности созданного препарата проводили на белых мышах обоего пола массой 19–22 г. Испытуемый препарат разводили водой для инъекций 1 : 4 и вводили белым мышам с помощью инсулинового шприца подкожно. Было испытано 5 доз препарата. Их подбирали таким образом, чтобы низшая доза (3000 мг/кг массы тела) не вызывала гибель животных, а высшая (5000 мг/кг массы тела) обеспечивала 100%-ю гибель. Промежуточные дозы вызывали гибель более или менее 50 % мышей. Каждая выбранная доза испытывалась на 6 животных. Интервал между дозами был одинаков и составлял 500 мг/кг массы тела.

Мышам контрольной группы вводили подкожно воду для инъекций. За лабораторными животными всех групп вели в течение 14 дней наблюдения, регистрируя общее состояние, реакции на воду, корм и внешние раздражители.

Расчет среднесмертельной дозы ($ЛД_{50}$) проводили по методу Кербера, а класс опасности препарата определяли по ГОСТ 12.1.007-76 [4]. Для установления последнего показателя исследуемый препарат вводили 10 белым мышам внутрижелудочно в дозе 5500 мг/кг массы тела.

Изучение влияния препарата на организм мышей при многократном его воздействии (подострая токсичность) проводилось после завершения острого эксперимента и определения среднесмертельной дозы ($ЛД_{50}$). Из мышей массой тела 18–22 г были сформированы 4 группы по 10 голов в каждой.

К животным первой группы препарат применяли в дозе $1/10 ЛД_{50}$ (420 мг/кг), второй – $1/20 ЛД_{50}$ (210 мг/кг) и третьей – $1/50 ЛД_{50}$ (84 мг/кг). К мышам опытных групп испытуемый препарат применяли подкожно в течение 10 дней. Четвертая группа животных являлась контрольной, и им вводили подкожно воду для инъекций.

В течение всего эксперимента за опытными и контрольными мышами вели наблюдение, учитывая потребление корма и воды, состояние шерстного покрова, поведение, прирост массы тела.

По окончании опыта все животные были декапитированы, взята кровь для исследования на биохимические показатели с помощью прибора DIALAB AUTOLASSER.

Раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки было изучено на кроликах. С этой целью подобрали 8 взрослых кроликов массой тела

2,6–2,8 кг. На кожный покров 4 кроликов после выстригания шерсти в области спины размером 7×8 см наносили препарат в нативном виде в дозе 20 мг/см^3 . Экспозиция составляла 4 ч. За клиническим состоянием и возможным проявлением интоксикации наблюдали в течение двух недель. При этом регистрировали функциональные изменения на коже, характеризующиеся проявлением различной степени выраженности эритемы и отека.

В нижний конъюнктивальный мешок правого глаза каждого из 4 других кроликов однократно вносили препарат в нативном виде в количестве 100 мкл, а в левый глаз – по 2 капли дистиллированной воды. Визуальное наблюдение за состоянием слизистой проводили также в течение двух недель, регистрируя при этом наличие слезотечения, блефароспазм, инъекцию сосудов, набухание век, их выраженность и длительность.

Кожно-резорбтивное действие препарата изучали «пробирочным» методом. Опыт проводился на крысах массой 150–200 г. Животных помещали в специальные домики с отверстиями для хвостов. Хвосты опытных крыс (10 голов) помещались на 2/3 в пробирки с неразведенным раствором испытуемого препарата, а хвосты контрольных крыс (10 голов) – в пробирки с дистиллированной водой с экспозицией 4 ч. Оценку резорбтивного действия проводили через 1 и 16 ч после окончания эпикутанного воздействия. Наблюдение за общим состоянием лабораторных животных проводили в течение 14 суток, регистрируя при этом падеж животных, клинические симптомы интоксикации и признаки раздражения кожи хвостов.

При определении безвредности за базовую величину взята начальная доза препарата, не вызывающая гибели мышей в опыте по определению острой токсичности. Эмпирическим путем подобрали то количество препарата, которое не будет вызывать гибели или клинических признаков интоксикации при однократном подкожном введении. Для этого препарат развели водой для инъекций 1 : 4 и ввели подкожно по 0,05 мл (500 мг/кг) 5 белым мышам.

Результаты исследований. В ходе эксперимента по изучению острой токсичности было установлено, что при подкожном введении препарата в дозе 3000 мг/кг массы тела, у мышей клинических признаков интоксикации не наблюдалось.

Доза 3500 мг/кг массы вызывала легкое угнетение, учащение дыхания. К концу первых суток пала 1 мышь.

С увеличением доз препарата (4000, 4500 мг/кг массы тела) у животных было более выражено угнетение, снижена реакция на корм и воду, обнаружилось учащенное дыхание, нарушение координация движений. В течение суток пало, соответственно, 3 и 5 мышей.

При подкожном введении препарата в дозе 5000 мг/кг массы в течение 6–8 ч наблюдалась 100%-я гибель животных.

У мышей контрольной группы признаков интоксикации не отмечалось. Они были активны, корм и воду принимали охотно.

Расчетным путем установлено, что ЛД₅₀ препарата для мышей при подкожном введении составляет 4167 мг/кг массы тела.

Исследования по определению класса опасности показали, что в течение всего периода наблюдений (14 дней) гибели мышей не отмечалось. Следовательно, микровит SA согласно ГОСТ 12.1.007-76 может быть отнесен к 4-му классу опасности, так как его среднесмертельная доза при введении в желудок – более 5000 мг/кг массы тела.

Результаты опыта по изучению подострой токсичности показали, что лабораторные животные опытных и контрольной групп охотно поедали корм и пили воду. Прирост массы тела между группами существенных различий не имел. По внешним признакам животные контрольной и опытных групп не отличались между собой: были подвижны, реагировали на внешние раздражители. Шерсть у всех мышей была гладкая, блестящая, кожный покров – розового цвета, без видимых повреждений, слизистые оболочки глаз – влажные, блестящие, розового цвета. В течение всего опыта не было случаев заболеваемости и гибели мышей.

Биохимический статус у лабораторных животных опытной группы практически не отличался от аналогичного показателя контрольных мышей.

При патологоанатомическом вскрытии у белых мышей опытной и контрольной групп не обнаружено каких-либо изменений во внутренних органах.

При анализе данных, характеризующих влияние испытуемого препарата на кожу, было установлено, что при однократных накожных аппликациях в дозе 20 мг/см³ внешних признаков интоксикации не наблюдалось. В области нанесения препарата кожа оставалась эластичной, естественной окраски. В течение всего периода наблюдений подопытные животные оставались активными, аппетит сохранен.

Результаты изучения раздражающего действия препарата «Микровит SA» на слизистые оболочки глаз по степени выраженности симптомов показали, что однократное его внесение в нативном виде в конъюнктивальный свод глаз кроликов в объеме 100 мкл не вызывает изменений со стороны органа зрения и слизистых оболочек.

По классификации выраженности раздражающих кожу и слизистые оболочки свойств при однократном местном воздействии испытуемый препарат может быть отнесен к первому классу – отсутствие раздражающего действия.

Анализ результатов опыта по изучению кожно-резорбтивного действия показал, что через 1 и 16 ч эпикутанного воздействия препарата у крыс опытной и контрольной групп клинических симптомов интоксикации

и признаков раздражения кожи хвостов не выявлено. За период наблюдения (14 суток) за крысами обеих групп видимых клинических признаков интоксикации, раздражения кожи хвостов и падежа не отмечалось.

При подкожном введении белым мышам по 0,05 мл микровита SA (500 мг/кг) гибели животных в течение всего периода наблюдений (48 ч) не отмечено, следовательно, испытываемая доза препарата может быть принята за безвредную.

Заключение. Среднесмертельная доза (LD_{50}) препарата «Микровит SA» при подкожном введении белым мышам составляет 4167 мг/кг массы тела. LD_{50} препарата при внутрижелудочном введении белым мышам – более 5000 мг/кг массы тела животного, что позволяет согласно ГОСТ 12.1.007-76 отнести его к IV классу опасности (вещества малоопасные).

По классификации выраженности влияния на кожу и слизистые оболочки глаз при однократном местном воздействии испытуемый препарат относится к I классу – отсутствие раздражающего действия.

Микровит SA не обладает кожно-резорбтивным действием, безвреден для белых мышей в тест-дозе 500 мг/кг.

Литература

1. Горбачёв, В. Витамины, микро- и макроэлементы : справочник / В. В. Горбачёв, В. Н. Горбачёва. – Минск : Интерпрессервис, 2002. – 544 с.
2. Иваницкий, Ю. Ю. Янтарная кислота в системе средств метаболической коррекции функционального состояния резистентности организма / Ю. Ю. Иваницкий, А. И Головкин, Г. А. Софронов. – СПб. : Лань, 1998. – 82 с.
3. Кучинский, М. П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных : монография / М. П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 372 с.
4. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
5. Применение янтарной кислоты и препарата «Янтарос плюс» в животноводстве : метод. пособие / А. В. Иванов [и др.] ; Рос. акад. с.-х. наук, отд. вет. медицины. – М. : ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 2013. – 37 с.

М. П. Кучинский,

доктор ветеринарных наук, профессор¹

Г. М. Кучинская,

заведующий отделом токсикологии и незаразных болезней животных¹

Т. М. Савчук,

научный сотрудник¹

Г. П. Цыруль,

младший научный сотрудник¹

С. Г. Азизбеян,

старший научный сотрудник²

¹*Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

²*Институт физико-органической химии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь*

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА, ЦИНКА И СЕЛЕНА НА ОРГАНИЗМ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА

Резюме. В статье представлены результаты опыта, проведенного в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», по оценке влияния наноразмерных частиц железа, цинка и селена на организм белых крыс в сравнении с неорганическими солями данных элементов. Опытные партии наночастиц микроэлементов наработаны сотрудниками ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси» (г. Минск).

Исследования показали, что, как наночастицы, так и неорганические соли микроэлементов существенно влияют на биохимические и морфологические показатели крови животных, а также массу селезенки и надпочечников. Однако достоверных различий по приросту живой массы между крысами, получавшими наноразмерные частицы и неорганические соли микроэлементов, выявить не удалось.

Ключевые слова: стресс, стрессоустойчивость, наночастицы, микроэлементы, кровь, белые крысы, внутренние органы.

Summary. The article presents the results of an experiment conducted in vivarium conditions of the RUE «Institute of experimental veterinary medicine nam. of S. N. Vyshellessky» according to the assessment of the effect of nanosized particles of iron, zinc and selenium on the body of white rats in comparison with inorganic salts of these elements. Experimental batches

of microelement nanoparticles were developed by employees of the State Scientific Institution «Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus» (Minsk).

Studies have shown that both nanoparticles and inorganic salts of trace elements significantly affect the biochemical and morphological parameters of animal blood, as well as the mass of the spleen and adrenal glands. However, significant differences in live weight gain between rats treated with nanosized particles and inorganic salts of trace elements could not be identified.

Keywords: stress, stress resistance, nanoparticles, trace elements, blood, white rats, internal organs.

Введение. К наиболее острым проблемам современного животноводства относят низкую сохранность, продуктивность, воспроизводительную способность, недостаточное качество и безопасность получаемой продукции. Нерешенными до конца вопросами являются также стрессочувствительность и стрессоустойчивость животных.

В настоящее время в различных отраслях промышленности, медицины и сельском хозяйстве все более широкое применение находят нанотехнологии. Так, одним из перспективных современных направлений аграрной науки является создание нанопрепаратов.

Сотрудниками НТООО «Актех» при ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси» разработаны микроэлементные нанопрепараты серии Наноплант. Они подтвердили статус нанопрепарата в аккредитованном для наноизмерений исследовательском центре Германии (получен сертификат на соответствие Регламентам Европейского союза для применения в органическом земледелии).

В последние годы в Республике Беларусь важное значение придается количеству и качеству продукции животного происхождения – молоку и мясу. Эффективность их производства во многом зависит от технологий кормления, содержания и зооветеринарного обслуживания животных, так как они в значительной степени влияют на их клинико-физиологическое состояние, естественную резистентность, развитие, продуктивность, адаптивную и воспроизводительную способность, а также на качество продукции. Однако некоторые вопросы научно-теоретического обоснования и совершенствования технологий содержания, кормления и обслуживания животных, позволяющих максимально использовать генетический потенциал продуктивности и получать экологически безопасную продукцию, остаются пока нерешенными. Также к ним относится низкая стрессоустойчивость животных [1, 5].

С внедрением в агропромышленный комплекс современных технологий значительно увеличилось число факторов внешней среды, оказывающих на организм животных стрессорное действие. Животные вынуждены приспосабливаться к изменившимся условиям существования, однако воз-

возможности компенсаторно-приспособительных механизмов небезграничны. Известно, что постоянная адаптация к условиям окружающей среды вызывает дополнительное напряжение физиологических процессов в организме животных, повышение уровня метаболизма и затрат энергии, серьезные нарушения в работе многих органов и систем, ухудшение здоровья животных, снижение продуктивности и ухудшение качества продукции, и даже гибель [2, 5].

К факторам внешней среды относят способы содержания, плотность размещения, величину групп, микроклимат помещений, технологию производства, тип и уровень кормления, качество и биологическую полноценность рационов, способы подготовки и раздачи кормов, качество питьевой воды, ветеринарно-профилактические и зоотехнические мероприятия (введение препаратов, санитарная обработка животных, взвешивание, отбор проб крови, кастрация, мечение, каудотомия и т. д.). Все они способны вызывать в организме животных определенные изменения и реакции. Причем чрезвычайные или экстремальные раздражители способны привести к серьезным нарушениям в работе многих органов и систем организма [1, 3, 5].

Для снижения негативных последствий стресса и повышения неспецифической резистентности организма в практике животноводства давно применяют некоторые биологически активные вещества и лекарственные препараты, в том числе и на основе микроэлементов [4, 6, 7]. Однако с их помощью, по разным причинам, невозможно в полной мере решать задачи по снижению негативных последствий стресса и повышению неспецифической резистентности организма животных.

С учетом вышеизложенного, изучение на лабораторных животных адаптогенной эффективности отечественных наномикроэлементов представляет большой научный и практический интерес с целью создания научного задела по разработке новых средств и способов снижения негативного влияния стрессов на продуктивность и качество животноводческой продукции.

Цель работы – оценить влияние наноразмерных частиц микроэлементов (Fe, Zn, Se) на организм лабораторных животных в сравнении с их неорганическими солями.

Материалы и методы. Для опыта по оценке влияния наночастиц цинка, железа и селена на организм лабораторных животных в сравнении с неорганическими солями микроэлементов из 70 белых крыс в возрасте 110–115 дней было сформировано семь групп – одна (1) контрольная ($n = 6$ гол.) и шесть (2–7) опытные (по 10 голов в каждой), в которых животные в течение 10 дней выдерживались в карантине. Экспериментальные исследования проводились в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского». Все крысы получали

стандартный рацион, на фоне которого к животным опытных групп в течение 10 дней применяли орально микроэлементы в виде наноразмерных частиц (2-я группа – наножелезо, 3-я – наноселен, 4-я – наноцинк) или неорганических солей (5-я группа – хлорид железа, 6-я – селенит натрия и 7-я – сульфат цинка), изготовленные в ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси». Суточная доза каждого из испытуемых микроэлементов в виде неорганических соединений и наночастиц была одинаковой и составляла: железа – 5 мг, цинка – 4 мг, селена – 3 мкг на кг живой массы. Крысы 1-й группы служили в качестве «чистого контроля». Животные всех групп в течение карантина и всего опыта содержались в одинаковых условиях. В последний день опыта контрольные и опытные животные подвергались тепловому стрессу (помещались на 40–45 мин в термостат при $t = 41\text{--}42\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Для оценки влияния соединений микроэлементов, применяемых орально, в начале и в конце опыта (после теплового стресса) проводили взвешивание крыс для учета среднесуточного прироста живой массы и отбор проб крови в две пробирки, в которых определяли морфологические и биохимические показатели крови на автоматическом гематологическом анализаторе (Orphee mythic 18, Швейцария) и биохимическом анализаторе (DIALAB Autolysers ISE, Италия). После убоя животных декапитуировали, вскрывали и отбирали внутренние органы для осмотра и определения их массы.

Массовую долю микроэлементов в образцах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе VISTA PRO (Varian, USA), а контроль размера наночастиц проводили с использованием метода наноразмерной оптической микроскопии на лазерном анализаторе «Zetasizer Nano ZS» фирмы Malvern (Великобритания).

Статистическую обработку материалов исследования проводили с помощью программы Microsoft Office Excel. Достоверность различий между показателями изученных групп осуществляли с использованием критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия между группами при $P < 0,05$.

Результаты исследований. При анализе результатов морфологических показателей крови лабораторных животных установлено, что к концу эксперимента у крыс большей части экспериментальных групп наблюдалось снижение количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, а также уровня гемоглобина по сравнению с соответствующими фоновыми показателями. При этом наиболее значительные изменения по перечисленным показателям наблюдались у животных, получавших наноселен (3-я группа). Так, у крыс данной группы выявлена наиболее сильная лейкопения (уровень лейкоцитов снижен как относительно фонового показателя, так и по отношению к контрольной группе: на 44,9 и 33,9 % соответственно).

Следует отметить, что данное снижение привело к значительным изменениям в соотношении между видами лейкоцитов среди животных 3-й группы: количество лимфоцитов составило 80,1 % от общего числа белых кровяных клеток, что достоверно выше контрольного показателя и показателя по группе, где селен применяли в форме неорганической соли, моноциты, наоборот, достоверно ниже по сравнению с теми же группами и составили всего 8,2 %. Значительный рост доли лимфоцитов и, соответственно, снижение доли моноцитов и гранулоцитов (при незначительных отличиях показателя общего количества лейкоцитов от других групп) наблюдается также в 5-й и 7-й группах (неорганические соли железа и цинка). Так, показатель уровня моноцитов 12,6 % в 5-й группе (хлорид железа) достоверно отличается от такового как в контроле, так и во 2-й группе (наножелезо).

Из литературных данных известно, что, при стрессе наблюдается снижение уровня лимфоцитов и, соответственно, рост моноцитов и гранулоцитов. С этой точки зрения наилучшими стрессопротекторными свойствами обладают примененные к крысам наноселен, хлорид железа и сульфат цинка, в чуть меньшей степени – наноцинк.

Количество эритроцитов и гемоглобина во всех опытных группах ниже значений таковых показателей как по отношению к фону, так и по отношению к контрольной группе. Наибольшие изменения зарегистрированы в 3-й, 4-й и 5-й группах (наноселен, наноцинк, хлорид железа), где уровень эритроцитов на 23,2, 22,7 и 20,1 %, а гемоглобин на 19,9, 18,7 и 16,0 % ниже соответствующих показателей в контроле. Однако следует отметить, что среднее содержание и концентрация гемоглобина в эритроците в описываемых группах достоверно выше, чем в контроле, а в группах, получавших наноселен и наноцинк (3, 4), – достоверно выше, чем в группах, получавших эти микроэлементы в форме солей (6, 7). Наблюдаемые в 3-й группе изменения картины крови сказались на уровне гематокрита, который в данной группе был достоверно ниже, чем в контроле.

В соответствии с результатами анализа биохимических показателей крови к концу эксперимента у животных опытных групп такие показатели, как АЛТ, АСТ, ГГТП, общий билирубин, фосфор и магний, имели более низкие значения, чем у крыс контрольной группы. За период опыта у контрольных и опытных животных в сыворотке крови увеличилось содержание общего белка, в основном за счет альбуминовой фракции. Следует отметить, что применение наноцинка и хлорида железа (группы 4 и 5) способствует меньшему росту общего белка крови и альбуминов (достоверно по отношению к контролю). Уровень альбуминов также был достоверно более низким по сравнению с контролем в 3-й группе (наноселен). Также в данной группе и в 4-й группе животных, получавших наноцинк, уровень альбуминов был достоверно ниже, чем в группах, получавших данные микроэлементы в форме неорганических солей.

Повышение уровня общего билирубина в данном опыте наблюдалось только в контрольной группе. Статистически достоверных изменений по данному показателю выявлено не было. Прямой билирубин был достоверно ниже по отношению к контролю в 3-й, 4-й и 6-й группах (наноселен, наноцинк и селенит натрия).

Во всех экспериментальных группах было зафиксировано повышение уровня мочевины по сравнению с фоновым показателем, но при этом в 4-й и 5-й группах (наноцинк и хлорид железа) данный показатель был достоверно ниже такового в контроле, а в 4-й группе – ниже соответствующего показателя в группе, получавшей сульфат цинка.

Уровень АЛТ был ниже фонового показателя в 3-й, 4-й и 5-й группах и в них же – достоверно ниже контроля. В остальных группах наблюдалось повышение уровня АЛТ по сравнению с фоном. Примечательно, что данный показатель практически во всех группах, получавших наночастицы, ниже, чем в группах, получавших неорганические соли, а в паре «наноселен – селенит натрия» разница достоверна. Значения показателя АСТ во всех экспериментальных группах выше, чем фоновый показатель, но при этом достоверно (по сравнению с контролем). Более низким это значение было в группах 4 и 5.

По содержанию мочевины и АЛТ в сыворотке крови лабораторных животных контрольных и опытных групп достоверных различий не выявлено. Показатель же АСТ у крыс 2-й группы был достоверно выше фоновых значений животных 1-й контрольной, а также 3-й, 4-й и 5-й опытных групп.

Результаты влияния различных соединений микроэлементов на живую массу крыс и массу внутренних органов представлены в таблице.

Влияние различных соединений микроэлементов на живую массу крыс, массу селезенки и надпочечников

Группа	Орган, его абсолютная масса		Масса тела в конце опыта	
	селезенка, г	надпочечники, мг	абсолютная, г	относительная, %
1	0,96 ± 0,12	54,48 ± 5,71	255,0 ± 9,71	7,3
2	1,67 ± 0,13*	46,64 ± 4,54	265,7 ± 11,63	11,4
3	0,78 ± 0,03	29,00 ± 1,37*	215,4 ± 10,23	9,2
4	1,18 ± 0,07	31,18 ± 3,29*	231,0 ± 9,90	10,9
5	1,01 ± 0,05**	27,88 ± 4,39**	237,9 ± 7,38	10,2
6	1,07 ± 0,04**	34,22 ± 3,85*	250,0 ± 4,17	11,6
7	0,90 ± 0,04**	35,66 ± 1,98*	245,2 ± 6,93	12,9

* Уровень значимости критерия достоверности по отношению к контрольной группе $P < 0,05$.

** Уровень значимости критерия достоверности по отношению к контрольной группе $P < 0,01$.

Из данных таблицы видно, что показатель относительной массы селезенки ($0,67 \pm 0,13$ %) был максимальным у крыс 2-й группы, минимальным – у животных 3-й группы. Относительная масса надпочечников у крыс всех опытных групп была ниже, чем у контрольных животных. Что касается прироста живой массы, то максимальные значения данного показателя имели животные 7-й группы – 12,9 %, что на 5,6 % выше, чем в контроле.

Заключение. Железо, цинк и селен в виде наноразмерных частиц и в форме неорганических солей оказывают существенное влияние на морфобиохимические показатели крови, массу селезенки и надпочечников белых крыс, а также повышают стрессоустойчивость их организма.

Существенных различий по влиянию наночастиц железа, цинка и селена на прирост живой массы лабораторных животных, в сравнении с неорганическими солями данных микроэлементов, не выявлено.

Литература

1. Голиков, А. Н. Адаптация сельскохозяйственных животных / А. Н. Голиков. – М. : Агропромиздат, 1985. – 216 с.
2. Гуськов, А. Н. Влияние стресс-фактора на состояние сельскохозяйственных животных / А. Н. Гуськов. – М. : Агропромиздат, 1994. – 341 с.
3. Кучинский, М. П. Биоэлементный статус организма сельскохозяйственных животных хозяйств Республики Беларусь, способы и средства его коррекции / М. П. Кучинский // Экология и животный мир. – 2014. – № 2. – С. 37–45.
4. Кучинский, М. П. Витамины и минералы в рационах / М. П. Кучинский // Животноводство России. – 2016. – № 10. – С. 53–55.
5. Никитченко, И. Н. Адаптация, стресс и продуктивность сельскохозяйственных животных / И. Н. Никитченко, С. И. Плященко, А. С. Зеньков. – Минск : Ураджай, 1988. – 107 с.
6. Ребров, В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. – М. : РЕОТАР-Медиа, 2008. – 960 с.
7. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М. : Издательский дом «Оникс 21 век» ; Мир, 2004. – 272 с.

5. ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ

УДК 619:618.4-036+619:615.35

Е. А. Кирюхина,

аспирант

Л. К. Герунова,

доктор ветеринарных наук, профессор

В. И. Герунов,

доктор ветеринарных наук, профессор

*Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина,
г. Омск, Российская Федерация*

ВИТАМИН D И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РОДИЛЬНОГО ПАРЕЗА У КОРОВ

Резюме. В статье представлены данные о причинах развития и патогенезе родильного пареза у крупного рогатого скота. Авторы рассматривают дефицит витамина D как основную причину гипокальциемии, повышенной нервной и мышечной возбудимости. Описаны метаболический путь холекальциферола и его влияние на выработку Са-связывающих белков. Доказана роль витамина D в патогенезе родильного пареза, но остается открытым вопрос о фармакокинетике его препаративных форм.

Ключевые слова: холекальциферол, родильный парез, кальций, Са-связывающие белки, фармакодинамика.

Summary. The article presents data on the causes of development and pathogenesis of puerperal paresis in cattle. The authors consider vitamin D deficiency as the main cause of hypocalcemia, increased nervous and muscle excitability. The metabolic pathway of cholecalciferol and its effect for the production of Ca-binding proteins are described. The role of vitamin D in the pathogenesis of puerperal paresis has been proven, but the question of the pharmacokinetics of its formulations remains open.

Keywords: cholecalciferol, puerperal paresis, calcium, Ca-binding proteins, pharmacodynamics.

Родильный парез (послеродовой парез, кома молочных коров, послеродовая гипокальциемия, молочная лихорадка, отельная горячка) – акушерско-гинекологическое заболевание, развивающееся до, во время или после

родов. Его возникновение чаще всего связывают со снижением уровня кальция в крови. Основными причинами, вызывающими гипокальциемию, являются дефицит или нарушение метаболизма витамина D, почечная недостаточность, гипопаратиреоз, нарушение соотношения кальция и магния в крови. Дефицит витамина D в организме животных может быть следствием неадекватного эндогенного синтеза, недостаточного поступления с кормом или мальабсорбции. Какова бы ни была причина, результатом является снижение количества 25-гидроксиколекальциферола, доступного для синтеза кальцитриола, что приводит к уменьшению абсорбции в кишечнике кальция и фосфата [5].

Несмотря на множество различных схем лечения и способов профилактики, родильный парез по-прежнему встречается как на территории России, так и за рубежом. Наносимый им экономический ущерб складывается из затрат на лечение, потери молочных коров, вторичных осложнений и дополнительных затрат на их лечение, снижения жирно-кислотного состава молока и молозива [1, 4, 5]. Как один из способов профилактики и лечения родильного пареза обсуждается применение витамина D, в связи с чем возникает необходимость фармакодинамического и фармакокинетического обоснования применения данного препарата при данной патологии [1, 4, 6]. Открытие и активное изучение действия метаболитов витамина D на организм человека и животных началось в 60–80-х гг. XX в. Если в начале изучения была известна лишь так называемая классическая функция витамина D – регуляция фосфорно-кальциевого обмена, то в настоящее время, благодаря исследованиям многих научных школ (De Luca, M. Holick, M. Pettifor и др.), объем информации о влиянии этого витамина на организм животных и человека значительно возрос. Так, стало известно об иммуностропном эффекте витамина D, его влиянии на сердечную и скелетную мускулатуру, прямом действии на β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, адипоциты, синтез гормонов и ряда других биологически активных веществ. Однако, несмотря на многочисленные открытия новых эффектов витамина D, остается недостаточно изученной его классическая функция, осуществляемая в комплексе с паратгормоном (ПТГ) и кальцитонином в терапии родильного пареза.

В связи с многочисленными предложениями специалистов по включению витамина D в схемы лечения родильного пареза, возникает вопрос о целесообразности и эффективности применения холекальциферола при данной патологии [1, 4, 6].

Цель обзора – обосновать роль витамина D в патогенетической терапии родильного пареза у коров.

Развитие родильного пареза начинается со стресса, вызванного стельностью и усугубляющегося родовой травмой. Так, от баро- и хеморецепто-

ров родовых путей и внутренних органов, косвенно задействованных в родовом акте, в кору больших полушарий активно поступают нервные импульсы, приводя к перенапряжению и последующему истощению нервной системы. Под действием стресса усиливается выработка *адренокортикотропного гормона*, глюкокортикостероидов, простагландинов, что вызывает угнетение функции паращитовидных желез. Вследствие этого нарушается поступление кальция из костного депо в кровь, что ведет к нарушению проведения нервных импульсов и развитию миастении [1]. В результате активной выработки кальцитонина перед родами и снижения выработки паратгормона меняется соотношение кальция и магния в пользу последнего [5], вследствие чего развиваются такие симптомы, как паралич глотки, языка и кишечника, затем судороги и коматозное состояние. Степень проявления послеродового пареза главным образом зависит от концентрации внеклеточного кальция и способности системы гомеостаза восполнять его баланс [1]. Кроме того, на фоне нарушения кальций-фосфор-магниевого соотношения повышается риск остеопении и остеопороза [2].

Гипокальциемия немедленно активирует синтез паратиреоидного гормона, который усиливает выведение кальция из костной ткани в кровь, а также экскрецию фосфора почками в результате уменьшения его реабсорбции в почечных канальцах. Таким образом сохраняется нормальное кальций-фосфорное соотношение. Однако, под действием АКТГ, глюкокортикостероидов, простагландинов развивается угнетение функции паращитовидных желез, снижается секреция ПТГ, в связи с чем его компенсаторная функция не осуществляется и поступление кальция из костного депо нарушается. Тогда в организме включается второй регулятор фосфорно-кальциевого обмена – витамин D. Но в сравнении с ПТГ он осуществляет более тонкую корректировку фосфорно-кальциевого обмена во многих органах и при больших потерях кальция эндогенного витамина D, который образуется в печени (кальцидол) и почках (кальцитриол), недостаточно, чтобы восполнить уровень кальция в крови и предотвратить его потребление из мышц [6]. Более того, ПТГ в норме стимулирует синтез кальцитриола, активируя 1- α -гидроксилазу, CYP27B1 в клетках проксимальных почечных канальцев. Следовательно, гипофункция паращитовидных желез не позволяет в достаточной степени стимулировать синтез эндогенного кальцитриола.

На этом основании целесообразно применение витамина D при родильном парезе для повышения уровня кальция в крови. Сам по себе холекальциферол неактивен и вызывает биологический эффект только после метаболических преобразований. После введения в организм холекальциферол связывается с витамин D-связывающими белками (VDBP) и альбуминами плазмы крови, которыми доставляется в печень. В купферовских клет-

ках печени под воздействием мембранного фермента семейства цитохрома P450 25-гидроксилазы (CYP3A4) холекальциферол путем гидроксилирования превращается в первый активный метаболит – кальцидол. Затем кальцидол в виде комплекса с VDBP транспортируется в проксимальные канальца почек, где связывается с эндоцитозными рецепторами мегалином и кубилином, которые реабсорбируют кальцидол из клубочкового филтратата [10]. Под действием митохондриального фермента семейства цитохрома P450 1 α -гидроксилазы (CYP27B1) и 24-гидроксилазы кальцидол в результате гидроксилирования превращается в кальцитриол. Считается, что ренальная продукция кальцитриола направлена на реализацию «классических функций», а именно – регуляцию минерального обмена [6].

Кальцитриол – стероидный гормон, точкой приложения которого являются рецепторы-мишени витамина D3 (VDR), располагающиеся более чем в 38 органах и тканях организма, чем обеспечивается его плеiotропный эффект. В этих тканях-мишенях VDR функционируют как в клеточных ядрах – в качестве фактора, влияющего на транскрипцию генома, так и в плазматических мембранах в качестве модулятора экспрессии генов. Эти рецепторы способны избирательно связываться с небольшими по размерам липофильными молекулами-лигандами, проникающими через клеточную мембрану с последующей диффузией в ядро. Образуются димерные молекулы, связывающиеся со специфическим реагирующим элементом ядерной ДНК. Образуется соединение VDR-ДНК, в результате чего избирательно стимулируется транскрипция ДНК. Этот процесс в свою очередь приводит к биосинтезу новых молекул мРНК и трансляции соответствующих белков, которые участвуют в физиологическом ответе. В частности, активируется синтез таких белков, как Са-связывающий белок, остеокальцин, остеопонтин, кальбиндин, орнитинкарбоксилаза, 24-гидроксилаза [3, 6].

В патогенезе родильного пареза важную роль играют Са-связывающие белки (СВР). Они имеют ключевое значение в выполнении кальцием роли основного вторичного мессенджера. СВР связывают Са²⁺ в специфических доменах, способствуя регуляции его концентрации в цитозоле и внутриклеточных депо. Они также участвуют в многочисленных клеточных функциях, действуя как переносчики Са²⁺ через клеточные мембраны или как датчики, модулирующие Са²⁺, т. е. декодируя Са²⁺-сигналы. Иными словами, СВР управляют временными и пространственными изменениями концентрации и динамики кальция. Благодаря связыванию кальция через множественные сайты связывания, СВР могут реагировать на узкие изменения его концентрации. Наиболее универсальной способностью реагировать на разные концентрации кальция в клетке обладает кальмодулин (СаМ). Белки, буферирующие кальций, такие как кальбиндин D_{9K} и пар-

вальбумин, действуют как буферные белки для жесткого контроля градиентов и кинетики внутриклеточных концентраций кальция. Такой белок, как кальсеквестрин с несколькими сайтами связывания кальция, также контролирует динамику кальция [8, 9].

Таким образом, можно предположить, что, благодаря увеличению количества СВР, кальций, поступающий в организм животного, наиболее экстенсивно усваивается клетками, в результате чего восстанавливается проведение нервных импульсов и устраняются симптомы болезни, а стимуляции синтеза СВР можно добиться путем введения витамина D.

Под действием холекальциферола в организме запускается каскад реакций, приводящий к синтезу ряда белков, регулирующих уровень кальция, что является аргументом для применения данного препарата при родильном парезе у крупного рогатого скота. Однако, несмотря на фармакодинамическое обоснование применения холекальциферола, остается открытым вопрос его фармакокинетики, так как необходимо понимать, как быстро реализуется нужный эффект. В зависимости от того, в какой лекарственной форме и комбинации используется препарат, фармакокинетика меняется, в связи с чем нельзя однозначно сказать о целесообразности применения, например, инъекционной формы холекальциферола при родильном парезе [7]. Отсюда следует необходимость глубокого изучения фармакокинетики разных лекарственных форм холекальциферола для обоснования эффективности и целесообразности их применения при родильном парезе.

Литература и источники

1. Корочкина, Е. А. К вопросу о родильном парезе коров и мерах его профилактики / Е. А. Корочкина, Л. В. Романенко, П. С. Анипченко // Генетика и разведение животных. – 2017. – № 3. – С. 83–86.
2. Лукьянчиков, В. С. Кальций: физиология. Онтогенетический и клинический аспект / В. С. Лукьянчиков // Новые исследования. – 2012. – № 2 (31). – С. 5–13.
3. Мальцев, С. В. Метаболизм витамина D и пути реализации его основных функций / С. В. Мальцев, Г. Ш. Мансурова // Практическая медицина. – 2014. – № 9 (85). – С. 12–18.
4. Окунев, А. М. Сравнительная эффективность схем лечения родильного пареза у коров в ТОО «Мичуринский» Тимирязевского района Северо-Казахстанской области / А. М. Окунев // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. – № 4 (13). – С. 191–201.
5. Профилактика и лечение при родильном парезе коров в условиях беспривязного содержания / В. В. Пилейко [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2011. – Т. 47, № 1. – С. 225–229.
6. Роли витамина D в обмене организма человека. Дефицит витамина D у взрослых [Электронный ресурс] // Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Минска. – Режим доступа: <https://bsmp.by/press-tsentr/polezno-znat/zdorovyy-obraz-zhizni/roli-vitamina-d-v-obmene-organizma-cheloveka-defitsit-vitamina-d-u-vzroslykh>. – Дата доступа: 26.01.2021.

7. *Фармакокинетический анализ* препаратов витамина D для перорального приема / И. Ю. Торшин [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2018. – № 3. – С. 57–63.
8. *An Update to Calcium Binding Proteins* / J. Elies [et al.] // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2020. – Vol. 1131. – P. 183–213.
9. *Design of Calcium-Binding Proteins to Sense Calcium* / S. Tang [et al.] // *Molecules*. – 2020. – № 25 (9): 2148. – P. 1–14.
10. *Influence of thyroidectomy on postoperative serum calcium level regarding serum vitamin D status. A prospective study* / G. Godazandeh [et al.] // *Caspian Journal of Internal Medicine*. – 2015. – № 6 (2). – P. 72–76.

УДК 612.015.33/348:636.4.082.455

Н. А. Шинкаревич,

соискатель

Л. Ю. Карпенко,

доктор биологических наук, профессор

А. А. Бахта,

кандидат биологических наук, доцент

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС СВИНЕЙ В ДИНАМИКЕ СУПОРОСНОСТИ

Резюме. В статье приведены данные по оценке биохимического статуса супоросных свиных по месяцам супоросности. Исследование проведено на базе свиноводческого хозяйства в Московской области Российской Федерации. При проведении исследований была сформирована подопытная группа из 30 супоросных помесных свиных пород ландрас, йоркшир, дюрок, у которых был произведен отбор проб крови на сроке супоросности 1,5 месяца, 2 месяца, 3 месяца, 3,5 месяца. В крови определяли уровень таких биохимических показателей, как альбумины, глобулины, мочевины, креатинин, глюкоза, кальций, фосфор, общий белок, активность АлАТ и АсАТ с использованием промышленных наборов «КлинТест» НПП «Эко-Сервис».

Ключевые слова: супоросные свиные, биохимический статус, срок супоросности.

Summary. The article presents data on the assessment of the biochemical status of pregnant pigs by months of pregnancy. The study was conducted on the basis of a pig farm in the Moscow region of the Russian Federation. During the research, an experimental group was formed of 30 pregnant crossbreed pigs of the Landrace, Yorkshire, Duroc breeds, in which blood samples were taken at a gestational age of 1,5 months, 2 months, 3 months, 3,5 months. The level of such biochemical substances was determined in the blood indicators, such as albumins, globulins,

urea, creatinine, glucose, calcium, phosphorus, total protein, ALT and AST activity using industrial kits «ClinTest» SPC «Eco-Service».

Keywords: gestation pigs, biochemical status, gestation period.

Введение. Интенсивность промышленного животноводства зачастую провоцирует нарушения метаболизма животных. Свиньи наиболее чувствительны к полноценности и сбалансированности рационов, и без разработки и внедрения в производственный процесс эффективных технологий содержания, кормления и обслуживания животных практически невозможно реализовать биоресурсный потенциал продуктивности свиней, обеспечить качество получаемой продукции и рентабельность отрасли. Особую значимость имеет тот факт, что на здоровье и продуктивность будущего потомства существенное влияние имеет состояние здоровья матери. Поэтому одним из основных и наиболее важных аспектов является необходимость качественной подготовки к опоросу. В связи с этим представляет интерес изучение особенностей состояния различных обменов у беременных свиноматок с целью выработки стратегий по сохранению здоровья свиней и одновременному получению от них качественного потомства. Целью данного исследования явился анализ изменений биохимического статуса организма беременных свиней в зависимости от месяца беременности.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе свиноводческого хозяйства ООО «Неофам», Московская область, Талдомский городской округ. Лабораторные исследования биоматериала проводились в ГБУВ МО «Терветуправление № 2» Сергиево-Посадской ветеринарной лаборатории. При проведении исследований была сформирована подопытная группа из 30 беременных помесных свиней пород ландрас, йоркшир, дюрок, у которых был произведен отбор проб крови на сроке беременности 1,5, 2, 3, 3,5 месяца. В крови определяли уровень таких биохимических показателей, как альбумины, глобулины, мочевины, креатинин, глюкоза, кальций, фосфор, общий белок, активность АлАТ и АсАТ с использованием промышленных наборов «КлинТест-НФ УФ» НПЦ «Эко-Сервис». Полученные данные подвергались статистической обработке с определением показателей: M – среднее арифметическое; m – ошибка среднего арифметического; P – значение вероятности; критерии корреляции коэффициента Стьюдента.

Результаты исследований представлены в таблице.

При анализе таблицы выявлено, что у животных наблюдается уменьшение содержания общего белка на 6,03 % ко второму месяцу беременности, в дальнейшем его содержание практически не менялось по сравнению с 1,5 месяцами беременности. При исследовании в 3 и 3,5 месяца беременности, по сравнению с 1,5 месяцами беременности, снижение содержания общего белка сыворотки крови составило 1,60 и 0,19 % соответственно.

Биохимические показатели крови супоросных свиноматок на разных сроках супоросности ($M \pm m$, $n = 30$)

Показатель	Единица измерения	Срок супоросности			
		1,5 месяца	2 месяца	3 месяца	3,5 месяца
Общий белок	г/л	71,69 ± 2,71	67,53 ± 1,50	70,48 ± 1,49	71,57 ± 2,88
Альбумины	г/л	37,58 ± 2,96	36,13 ± 1,84	21,98 ± 1,44*	41,54 ± 1,24
	%	52,43 ± 2,76	53,49 ± 1,32	31,19 ± 1,83*	58,04 ± 1,33
Глобулины	г/л	34,10 ± 3,25	31,41 ± 1,52	48,50 ± 1,81*	30,03 ± 2,32
	%	47,57 ± 3,01	46,51 ± 1,58	68,81 ± 1,77*	41,96 ± 2,12
Мочевина	ммоль/л	5,45 ± 0,42	4,87 ± 0,45	3,52 ± 0,77*	4,16 ± 0,39*
Креатинин	мкмоль/л	146,22 ± 8,67	147,25 ± 7,87	169,02 ± 8,39	166,76 ± 9,12
Глюкоза	ммоль/л	2,65 ± 0,78	3,75 ± 0,22	4,82 ± 0,63*	3,51 ± 0,12
Кальций	ммоль/л	3,32 ± 0,38	2,19 ± 0,08*	2,24 ± 0,12*	2,25 ± 0,14*
Фосфор	ммоль/л	3,16 ± 0,56	3,49 ± 0,34	2,89 ± 0,04	3,06 ± 0,06
Ca/P	ммоль/л	1,10 ± 0,10	0,63 ± 0,06*	0,78 ± 0,09*	0,74 ± 0,11*
Билирубин общ.	ммоль/л	1,59 ± 0,29	1,65 ± 0,10	2,03 ± 0,30	2,46 ± 0,15*
АсАТ	е/л	95,96 ± 8,52	52,09 ± 7,19*	74,52 ± 8,82	64,45 ± 4,42*
АлАТ	е/л	76,17 ± 1,58	65,17 ± 1,34*	69,92 ± 1,39*	69,71 ± 1,93*

* $P < 0,05$ при сравнении показателей к периоду супоросности в 1,5 месяца.

В результате сравнения показателей азотистого обмена, таких как мочевина и креатинин, было выявлено, что изменение содержания уровня мочевины не носило линейного характера, так как наблюдалось достоверное снижение уровня мочевины к 3 месяцам беременности на 34,79 % относительно его значений в 1,5 месяца беременности, в дальнейшем шло достоверное увеличение показателя на 20,55 % относительно 3 месяцев беременности. Изучая динамику содержания креатинина сыворотки крови нами отмечено достоверное увеличение показателя к 3 месяцам беременности на 15,53 % относительно 1,5 месяцев беременности, с сохранением данной тенденции до 3,5 месяца.

Изменение уровня глюкозы имело аналогичную динамику. Достоверное увеличение наблюдалось в 3 месяца супоросности на 81 % по сравнению с 1,5 месяца супоросности. К 3,5 месяца супоросности мы наблюдаем снижение уровня глюкозы относительно 3 месяцев супоросности на 28 %, которое не носило достоверного характера.

При анализе содержания уровня кальция и фосфора выявлено, что достоверное снижение значений кальция в крови супоросных свиноматок отмечается в 2 и 3 месяца беременности, по отношению к его содержанию на начало беременности, где он был выше на 30,38 и 29,75 % соответственно. Снижение фосфора на 12,58 % в организме свиноматок наблюдается к третьему месяцу беременности по сравнению с 1,5 месяца.

К 3-му месяцу супоросности наблюдаем и увеличение билирубина на 27 %, которое сохранилось до 3,5 месяца и достоверно увеличилось на 54 % к 1,5 месяца супоросности. Увеличению содержания уровня билирубина, которое сохранилось до 3,5 месяца супоросности, соответствуют и изменения в активности аминотрансфераз, которые не носили линейного характера. Так, наивысшая активность АсАт и АлАт наблюдается на сроке 1,5 месяца супоросности, далее шло достоверное снижение в 2 месяца супоросности на 46 и 15 % соответственно. К 3 месяцам супоросности отмечается повышение АсАТ на 31 % и достоверное повышение АлАТ на 7 %, по сравнению с предыдущим периодом супоросности, и сохранение активности трансфераз к 3,5 месяца, с незначительным достоверным снижением активности АсАТ и АлАТ на 14 и 1 % соответственно.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что основные изменения ряда биохимических показателей у супоросных свиноматок достоверно происходят во время супоросности на сроке 3 месяцев, во второй половине супоросности, которая является критической для данного вида животных, так как идет интенсивный рост плодов, что требует от организма матери существенных затрат, в том числе и в виде компенсации белкового, энергетического, минерального обмена за счет собственных ресурсов. Основываясь на полученных данных, можно считать обозначенный период критическим для супоросных свиноматок, который требует применения биологических активных препаратов для корректировки обмена веществ.

Литература

1. *Активация белкового обмена у супоросных свиней в условиях промышленного содержания* / А. А. Стекольников [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 166–171.
2. *Бахта, А. А. Взаимосвязь белкового обмена и состояния печени у коз зааненской породы в зависимости от месяца сукозности* / А. А. Бахта, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 112–114.
3. *Карпенко, Л. Ю. Динамика белкового и азотистого обменов голштинизированных черно-пестрых пород коров в зависимости от месяца стельности* / Л. Ю. Карпенко, А. А. Погодаева, А. А. Бахта // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 112–114.
4. *Кинаревская, К. П. Видовые особенности уровня бактерицидной активности сыворотки крови животных при беременности* / К. П. Кинаревская, П. А. Полистовская // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны : материалы междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 22–23 ноября 2018 г. – СПб. : Санкт-Петербургская гос. академия ветеринарной медицины, 2018. – С. 103–104.
5. *Патологическая физиология органов и систем : учеб.-метод. пособие* / О. В. Крячко [и др.]. – СПб. : Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины, 2022. – 99 с.

А. А. Тургумбеков,
магистр ветеринарных наук

С. Д. Айдарбеков,
магистр ветеринарных наук

К. У. Койбагаров,
кандидат ветеринарных наук, доцент

Н. Жадигер,
магистрант

Е. С. Усенбеков,
кандидат биологических наук, доцент

*Казахский национальный аграрный исследовательский университет,
г. Алматы, Республика Казахстан*

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ КОРОВ В ЛИЧНЫХ ПОДСОБНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ

Резюме. Проведена оценка влияния различных факторов на результативность искусственного осеменения коров в личных подсобных хозяйствах Жамбылской области. Решающими факторами высокой оплодотворяемости коров являются: осеменение коров с естественным половым циклом либо с инсинхронизацией полового цикла, проведение искусственного осеменения коров с учетом климатических условий области (в северной части области оптимальное время искусственного осеменения – апрель, в южной части – май), переподготовка техников-осеменаторов перед началом работы по искусственному осеменению коров, правильный отбор быков-производителей для каждого района с учетом направления продуктивности, периодическое проведение микроскопического исследования спермы, строгий учет результатов осеменения в журналах регистрации.

Ключевые слова: искусственное осеменение коров, синхронизация полового цикла, эстрофан, естественный половой цикл, активность спермиев, кратность осеменения, «перерегулы у коров», диагностика половой охоты.

Summary. The authors of the work assessed various factors on the effectiveness of artificial insemination of cows, owners of private farms in the Zhambyl region. The decisive factors for the high fertility of cows are: insemination of cows with a spontaneous sexual cycle or with an induced sexual cycle, artificial insemination of cows, taking into account the climatic conditions of the region, in the northern part of the region the optimal time for artificial insemination is April, in the southern part of the region it is May, retraining of insemination technicians before

the beginning of work on artificial insemination of cows, the correct selection of sires for each region, taking into account the direction of productivity, periodic microscopic examination of semen, strict accounting of the results of insemination in the registration logs.

Keywords: artificial insemination of cows, synchronization of the estrous cycle, estrofan, spontaneous estrous cycle, sperm activity, frequency of insemination, «overruns in cows», estrus diagnostics.

Введение. Следует отметить, что хотя искусственное осеменение широко используется в животноводстве и часто выполняется менеджерами или работниками фермы, не следует полагать, что это простой метод. Результативность искусственного осеменения зависит от многих факторов, в том числе от квалификации и опыта техника-осеменатора. Селекционные организации часто предлагают обучение технике искусственного осеменения, но общее качество, интенсивность обучения и конкретные рекомендации могут значительно отличаться в рамках разных учебных программ. Для приобретения практических навыков, необходимых для искусственного осеменения коров ректоцервикальным способом, стажеры должны работать с убойным материалом и получить значительную практику осеменения коров. Кроме того, стажеры должны получить хорошее представление об анатомии репродуктивной системы и понять основы надежной программы управления репродуктивной функцией [1].

Увеличение уровня фертильности у лактирующих коров и профилактика симптоматического бесплодия на молочных фермах являются основой высокой рентабельности производства молока. Следует отметить, что одним из экономически важных нарушений воспроизводительной функции высокопродуктивных коров являются многократные безрезультатные осеменения как следствие низкой фертильности и высокой предимплантационной эмбриональной смертности, а также овуляторная дисфункция яичников коров в начальный период лактации [2]. Известно, что патологии органов размножения часто сопровождаются снижением оплодотворяемости в результате морфологического или функционального нарушений репродуктивных органов. Так называемый метритный комплекс у молочных коров приводит к снижению фертильности, у животных часто наблюдается повторение половой охоты. Анализ литературы свидетельствует о большом проценте охвата методом искусственного осеменения в молочном скотоводстве Республики Беларусь, так как большая часть поголовья молочного направления содержится на крупных молочных комплексах [3].

Критерием уровня развития животноводства любой страны, в том числе молочного и мясного скотоводства, является доля племенного поголовья. В развитых странах процент племенного поголовья крупного рогатого скота достигает 65–70 %. Однако в Республике Казахстан такой доступный способ улучшения генетического потенциала животных, повышения их

продуктивности, как метод искусственного осеменения коров, используется не в полной мере. Методом искусственного осеменения коров и телок в нашей стране охвачены в основном крупные молочные и частично племенные мясные хозяйства. Причиной низкого уровня использования технологии искусственного осеменения является дефицит техников-осеменаторов, отсутствие соответствующих государственных программ, наличие противоположных мнений о низкой экономической эффективности применения способа искусственного осеменения коров и телок частного сектора, мелких и средних фермерских хозяйств. Следует отметить, что в Республике Казахстан поголовье крупного рогатого скота в настоящее время составляет около 8,5 млн голов, из них 70–75 % сосредоточены в личных подсобных хозяйствах. В связи с вышеизложенным внедрение способа искусственного осеменения коров и телок частного сектора является наиболее актуальной проблемой в нашей стране [4–6]. Так, в 2023 г. по инициативе акима Жамбылской области Н. М. Нуржигитова по программе «Ауыл аманаты» были выделены финансовые средства для внедрения технологии искусственного осеменения коров и телок в личных подсобных хозяйствах Жамбылской области.

Целью настоящей работы было изучение влияния различных факторов на результативность искусственного осеменения коров частного сектора и определение оптимальных сроков и времени искусственного осеменения.

Материалы и методы. Работа по искусственному осеменению коров и телок личных подсобных хозяйств проводилась в период с 11 мая 2023 г. Были сформированы 5 мобильных групп по проведению искусственного осеменения коров из числа сотрудников Казахского национального аграрного исследовательского университета, также для реализации данной программы были привлечены 20 техников-осеменаторов соответствующих районов Жамбылской области. Организация искусственного осеменения коров частного сектора проводилась в следующей последовательности: объявление Управлением сельского хозяйства Жамбылской области конкурса на проведение искусственного осеменения коров; участие в конкурсе; сообщение о результатах конкурса; заключение договора на выполнение работ; проведение разъяснительной работы среди населения (о необходимости изолированного содержания быков-производителей, недопущении бесконтрольного использования беспородных бычков для воспроизводства); создание мобильных групп техников-осеменаторов; обеспечение техников-осеменаторов необходимыми инструментами и расходными материалами (рис. 1).

Жидкий азот приобрели на заводе ТОО «Казфосфат» по цене 329 тг за 1 кг с доставкой на пункты искусственного осеменения. Для доставки жидкого азота привлекли специализированную автомашину ТОО «Асылдандыру Тараз» (рис. 2).



Рис. 1. Беседа со скотником о количестве коров, находящихся в половой охоте



Рис. 2. Заправка сосудов Дьюара жидким азотом для доставки замороженной спермы племенных быков-производителей техникам-осеменаторам

Для искусственного осеменения коров в зависимости от спроса жителей разных районов Жамбылской области была использована сперма племенных быков-производителей комбинированного молочно-мясного направления продуктивности: симментальской породы (бык Сокол № 16/E37, всего 1375 доз), алатауской породы (бык Арлан № 330, всего 1282 доз), бурой швицкой породы (бык Saturn/Batyr, всего 525 доз), молочного направления продуктивности голштинской породы Канадской селекции (бык Comestar Legendairy № 107870109, всего 700 доз, бык Robella Goldchip Piston PB № 11378506, всего 720 доз), местной аулиеатинской породы (бык Тарзан № 529, всего 300 доз), мясного направления продуктивности отечественной казахской белоголовой породы (бык Самурык, всего 500 доз), местной аулиекольской породы (бык Майдан № 7982, всего 570 доз), ангусской породы американской селекции (бык Heisman, № 1705, всего 350 доз).

Породный состав маточного поголовья в зависимости от районов следующий: черно-пестрой масти (живой массой 320–380 кг), бурой масти, ближе к алатауской породе, достаточно крупные (живой массой 300–340 кг), беспородные, с более низкой живой массой (280–300 кг), красной масти, ближе к казахской белоголовой или калмыцкой породам; возраст животных колебался от первотелок до 7–8 отелов. Для искусственного осеменения были использованы катетеры, чехлы, перчатки одноразовые, американские размораживатели спермы, водяные бани, резак, пинцеты, маркеры, в отдельных случаях – влагалищные зеркала. Для хранения спермы использовали сосуды Дьюара объемом 35 л, 15 л, 6 л. Доливку сосудов Дьюара в зависимости от их объема осуществляли со следующим интервалом: маленьких сосудов – 7–10 дней, больших – 25–30 дней. Перед использованием замороженную сперму оценивали микроскопическим способом: подвижность спермиев после размораживания составила 4–6 баллов, густота редкая. Оттаивали сперму в размораживателе или на водяной бане при температуре 35–38 °С, длительность процесса составила 25–30 с.

Искусственное осеменение коров и телок проводилось техниками-осеменаторами с 11 мая 2023 г. в 24 населенных пунктах двумя способами: ректоцервикальным и визоцервикальным. Осеменаторы с небольшим практическим опытом использовали второй, визоцервикальный способ осеменения. До начала работы по искусственному осеменению коров во всех стадах было допущено совместное содержание взрослых быков для воспроизводства, также молодых беспородных бычков в возрасте от 10 до 18 месяцев, поэтому в первую очередь изолировали быков-производителей и беспородных бычков от маточного поголовья, организовывали отдельное содержание бычков (рис. 3).



Рис. 3. Пастбищное содержание коров частного сектора сельского округа Жетитобе Жуалынского района, наблюдение за животными, выявление коров в половой охоте

Результаты исследований. Признаки половой охоты у коров выявлял скотник в течение дня путем наблюдения, после обеда передавал информацию техникам-осеменаторам, при этом учитывались такие признаки, как обнимательный рефлекс, беспокойство, обнаружение выделения слизи из половых органов, изменение поведения животного, снижение удоя. Для удобства всех коров разделили на три группы: 1-я – стельные коровы по результатам ректального исследования и анамнеза, 2-я – сомнительные коровы, у которых в течение последних 10–15 дней был половой контакт, 3-я – явно бесплодные коровы по результатам ректальной диагностики. Коровам и телкам с естественном половым циклом проводили искусственное осеменение. Бесплодным коровам вводили эстрофан в дозе 2,0 мл внутримышечно, и в течение 3–5 дней после инъекции, в случае проявления признаков половой охоты, осуществляли искусственное осеменение (рис. 4).

На 26 июня 2023 г. количество осемененных коров на 24 пунктах искусственного осеменения составило 1865 голов, более 60 % – с естественным половым циклом, остальные 40 % животных – с индукцией эстрального цикла с помощью ветеринарного препарата «Эстрофан». По предварительным результатам анализа доля коров, у которых наблюдались повторно признаки половой охоты, в зависимости от квалификации техников-



Рис. 4. Осеменение коровы с естественным половым циклом ректоцервикальным способом спермой симментальской породы



Рис. 5. Абортирванный плод коровы в результате ошибочной инъекции эстрофана стельной корове

осеменаторов колебалась от 8 до 14 %. Искусственное осеменение коров проводилось в основном однократно, после вечерней дойки, в некоторых случаях для повышения оплодотворяемости была использована двухкратная доза замороженной спермы с общим количеством активных спермиев в дозе от 12 до 18 млн, с активностью 4–6 баллов.

В одном случае в результате ошибочной инъекции эстрофана (владелец животного убедил техника-осеменатора, что корова точно бесплодная) у коровы произошел ранний аборт, сроком стельности приблизительно 35–40 дней (рис. 5).

Заключение. Предварительный анализ результатов работы показывает, что проведение искусственного осеменения коров частного сектора имеет свои особенности: необходимо предварительное проведение разъяснительной работы среди населения, обеспечение изолированного содержания быков-производителей и беспородных бычков в период проведения искусственного осеменения, согласованная работа со скотниками (по выявлению коров в охоте), бесперебойное обеспечение техников-осеменаторов жидким азотом (радиус расположения пунктов по удаленности от областного центра был от 60 км до 492 км), учет природно-климатических особенностей каждого района, правильный отбор быков-производителей, использование спермы быков-производителей голштинской и симментальской пород (во избежание крупноплодия), только для коров живой массой более 320 кг. Начало реализации проекта было запланировано на 15 апреля 2023 г., однако из-за поздних сроков окончания конкурса (11 апреля 2023 г.) и в связи с приобретением сосудов Дьюара, размораживателей, катетеров, расходных материалов, замороженной спермы, что осуществлялось

через отдел государственных закупок университета (процедура занимает от 15 до 30 дней), работы по искусственному осеменению начались позже, с 11 мая 2023 г.

Наиболее доступным и простым способом индукции эстрального цикла у коров является применение эстрофана в дозе 2,0 мл внутримышечно. После введения данного препарата, обычно на 3–6-й день, у коров часто ярко проявляются признаки половой охоты (течка, изменение поведения животного, снижение удоя).

Финансирование. Данная работа выполнена в рамках реализации инновационной программы 019 управления сельского хозяйства акимата Жамбылской области, согласно Договору о государственных закупках работ, не связанных со строительством, № 30 от 11 апреля 2023 г.

Литература и источники

1. *Harstine, B.* 113 Genetics Industry Infrastructure: How Are Artificial Insemination Organizations Adapting to Changes in the Beef Industry? / B. Harstine, L. Marshall, M. de Jarnette // Journal of Animal Science. – Vol. 99, iss. 1. – May 2021. – P. 40–41. – Mode of access: <https://doi.org/10.1093/jas/skab054.071>. – Date of access: 07.05.2021.

2. *Кузьмич, Р. Г.* Проблема ранних абортос у коров и возможности ее решения / Р. Г. Кузьмич, А. С. Клименко // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» гос. акад. ветеринар. медицины. – 2014. – Т. 50, вып. 1, ч. 1. – С. 113–115.

3. *Медведев, Г. Ф.* Влияние заболеваний метритного комплекса на частоту синдрома «повторение половой охоты» у коров / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных : материалы. междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров, Воронеж, 18–19 октября 2012 г. – Воронеж, 2012. – С. 332–338.

4. *Тургумбеков, А. А.* Опыт использования искусственного осеменения коров частного сектора сельского округа «Корагаты» Жамбылской области / А. А. Тургумбеков, С. Хизат, Е. С. Усенбеков // Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. памяти д-ра ветеринар. наук, проф. В. И. Пионтовского. – 2021. – С. 115–121.

5. *Методы* индукции стадии возбуждения полового цикла у коров и результативность искусственного осеменения / А. А. Тургумбеков [и др.] // СХХI междунар. научные чтения (Г. Ф. Трифонова) : сб. ст. междунар. науч.-практ. конф., 8 сентября 2021 г. – М. : Научная артель, 2021. – С. 22–24.

6. *Факторы*, влияющие на результативность искусственного осеменения коров и телок частного сектора / М. С. Мухаметжанова [и др.] // Научные исследования студентов в решении актуальных проблем АПК : материалы Всероссийской студенческой науч.-практ. конф., 17–18 февраля 2022 г. – Т. III. – Молодежный : Иркутский ГАУ, 2022. – С. 162–167.

Н. И. Целуева,

кандидат ветеринарных наук²

Т. Ф. Черных,

доктор фармацевтических наук, профессор¹

А. В. Шульц,

аспирант¹

Е. В. Флисюк,

доктор фармацевтических наук, профессор¹

Ю. М. Коцур,

кандидат фармацевтических наук¹

¹*Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет*

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²*Федеральный научный центр лубяных культур, ОП Смоленский НИИСХ,*

г. Смоленск, Российская Федерация

ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТОВ ЖИВОТНЫХ

Резюме. Проведены исследования секрета молочной железы крупного рогатого скота (КРС). Микробиологические исследования выделения видов микроорганизмов при воспалительных процессах в молочной железе у коров показали, что в секрете содержатся патогенные (ПМ) и условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) различной бактериальной и грибковой этиологии. Установлено положительное влияние изучаемого препарата на морфологические, биохимические показатели крови и процессов функционального восстановления.

Ключевые слова: крупный рогатый скот (КРС), мастит, бактерии, грибы, резистентность, тиадiazол, ассоциация микроорганизмов, гель, морфологические и биохимические показатели крови.

Summary. Studies of the secretion of the mammary gland of cattle (cattle) have been carried out. Microbiological studies of the isolation of microbial species during inflammatory processes in the mammary gland in cows have shown that pathogenic (PM) and conditionally pathogenic microorganisms (UPM) of various bacterial and fungal etiologies are contained in the secret. The positive effect of the studied drug on morphological, biochemical parameters of blood and functional recovery processes has been established.

Keywords: cattle (cattle), mastitis, bacteria, fungi, resistance, thiadiazole, association of microorganisms, gel, morphological and biochemical parameters of blood.

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к началу XXI столетия в промышленности и сельском хозяйстве использовалось около 500 тыс. химических соединений и веществ, из которых более 40 тыс. являются вредными и около 12 тыс. – токсичными для здоровья. ВОЗ зафиксировала опасную тенденцию: рост устойчивости микроорганизмов (МО) к противомикробным препаратам. Результатом становится невозможность лечения многих заболеваний. Быстрое распространение разнообразных механизмов резистентности ставит перед клинической медициной, ветеринарией и фундаментальной биологией серьезные вопросы [1].

Ведущую роль в развитии воспалительного процесса в молочной железе КРС играют различные УП и ПМ. В последнее время при лечении некоторых заболеваний животных, в частности молочной железы, бессистемно применяется широкий спектр антимикробных препаратов, при котором отмечаются повышенная резистентность микрофлоры к ним и разные осложнения.

Альтернативой преодоления негативных последствий применения противомикробных препаратов при терапии маститов коров является разработка новых высокоэффективных и безопасных лечебных химиотерапевтических средств [3].

Целью настоящих исследований является изучение нового препарата из группы производных 1,2,4-тиадиазола в виде геля на ПМ и УПМ при воспалительных процессах молочной железы и установление его терапевтической эффективности.

Материалы и методы. Объектами исследования явились КРС в хозяйствах Смоленской области. На первом этапе исследований для определения видового состава микрофлоры нами было изучено 60 проб секрета молочной железы от больных коров. С целью нахождения видового состава микрофлоры при маститах были исследованы пробы секрета молочной железы от больных коров. Перед взятием проб область вымени обмывали теплой водой и высушивали чистым и сухим хлопчатобумажным полотенцем. Затем образец, выделений из молочной железы, в количестве 10 мл помещали в стерильные пробирки. Исследования включали посев секрета вымени на различные питательные среды с целью выделения и идентификации микроорганизмов. Изучение видового состава микрофлоры проводили согласно общеизвестным методикам [4].

Для учета общего количества бактерий и грибов молоко перед посевом разводили стерильным изотоническим раствором хлористого натрия в соотношении 1 : 100. Исследования проводили в стерильных условиях. Посев изучаемого материала проводили на среды МПА для бактерий и Сабуро – для дрожжевых и плесневых грибов. Условия термостатирования бактерий: при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ – в течение 24–36 ч и $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ – в течение 48–72 ч (для дрожжевых и плесневых грибов).

Результаты исследований. Нами при бактериологическом исследовании видового и количественного содержания МО в пробах молока, взятых от коров, больных маститом, были выделены грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы рода *Candida* и общее количество других представителей грибов (табл. 1).

Таблица 1. Видовой и количественный состав микроорганизмов в пробах молока при мастите КРС

Вид микроорганизма	Процентное содержание
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,28
<i>Staphylococcus hominis</i>	4,13
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	21,37
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7,84
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3,11
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7,94
<i>Escherichia Coli</i>	3,52
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,21
<i>Clostridium perfringens</i>	3,47
Грибы рода <i>Candida</i>	12,64
Другие представители грибов	13,59

В результате экспериментальных исследований были выделены 9 разновидностей микроорганизмов группы бактерий, а также отдельно – представители грибов рода *Candida*. В связи с тем, что других возбудителей – грибов, выделить сложно, нами в опытах выделено их суммарное количество, что составляло 13,59 %.

Исследования показали, что в молоке коров при заболевании маститом присутствуют разные виды микроорганизмов (рис. 1).

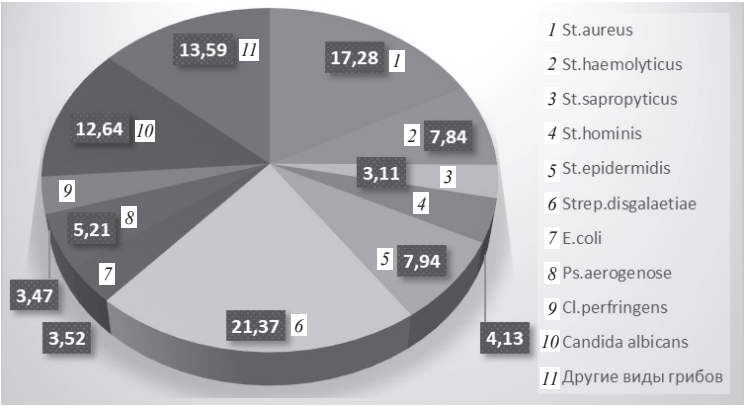


Рис. 1. Количество и идентификация микроорганизмов в пробах молока коров, больных маститом, %

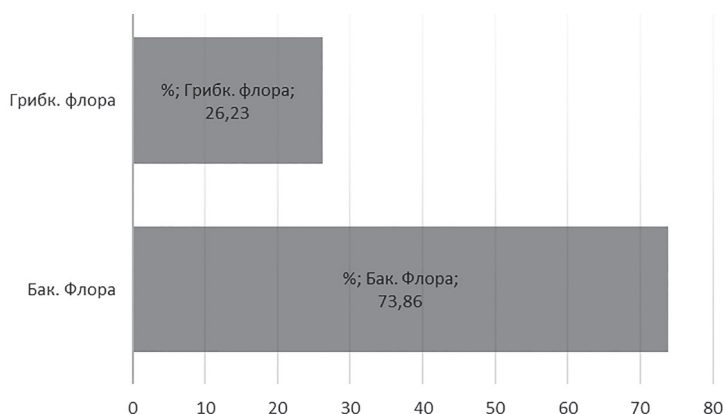


Рис. 2. Соотношение грибковой и бактериальной флоры в пробах молока при мастите КРС, %

Как видно из рис. 1, наибольшее количество МО выделены из групп *Streptococcus dysgalactiae* (21,37 %); *Staphylococcus aureus* (17,28 %); грибы рода *Candida* (12,64 %) и других представителей (суммарно) грибов – 13,59 %.

В литературных источниках при изучении воспалительного процесса молочной железы животных не в полной мере представлена или отсутствует информация об идентификации грибковой этиологии. Для нас представляло большой интерес изучение грибковой микрофлоры. Первичные данные показали неоднозначную картину. В основном большая часть видов грибов находилась в ассоциации с другими МО, и определение чистой культуры грибов вызывало некое затруднение. В настоящее время исследования в этом направлении продолжают с применением современных методов (ПЦР) диагностики. Соотношение грибковой и бактериальной флоры представлено на рис. 2.

Анализ данных показал, что в пробах находится наибольшее количество микроорганизмов – бактерий (9 видов), что составляет 73,86 %. Грибковой микрофлоры выделено 26,23 %, из них 12,64 % – в чистой культуре (грибов рода *Candida*), и комплексное соотношение других видов (мицеллярных и плесневых) грибов – 13,59 %. Данные исследований представлены на рис. 3.

Согласно полученным данным бактериологического исследования больных маститом коров было выявлено, что заболевание молочной железы коров имеет инфекционную природу, которая была неоднократно подтверждена многими исследователями. Нами выделены патогенные возбудители, которые находились в монокультуре (58,95 %) и ассоциации микроорганизмов (41,05 %).

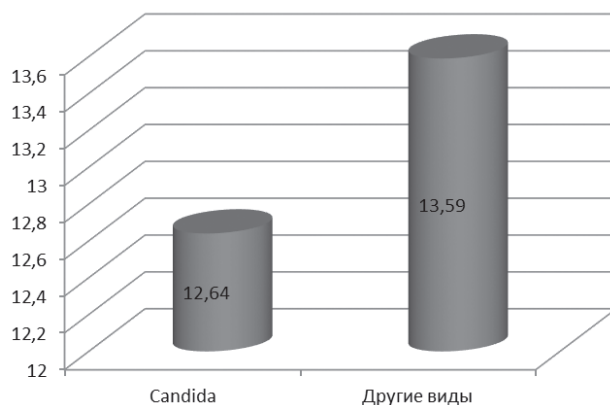


Рис. 3. Содержание грибковой микрофлоры в пробах молока при мастите КРС, %

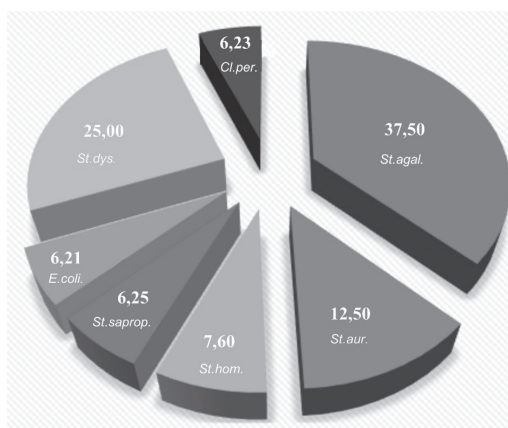


Рис. 4. Микроорганизмы – бактерии, выделенные в виде монокультур, %

В исследуемых пробах была выделена монокультура следующих микроорганизмов: *Streptococcus agalactiae* – 37,51 %; *Staphylococcus aureus* – 12,50; *Staphylococcus hominis* – 7,60; *Staphylococcus saprophyticus* – 6,25; *Escherichia coli* – 6,21; *Streptococcus dysgalactiae* – 25,04 и *Clostridium perfringens* – 6,23 % (рис. 4).

Как видно из рис. 4, наибольшее количество МО при мастите КРС выделено в группе *Streptococcus agalactiae*, что составляет 37,51 %, а наименьшее содержание МО групп – *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens* – 6,25, 6,21 и 6,23 % соответственно.

Нами, кроме монокультур, выделенных МО, были доказаны ассоциации МО, которые встречались в пробах молока из пораженного маститом вымени у 41,05 % коров. В комплексных ассоциациях наблюдались следующие соотношения и виды микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2. Ассоциации микроорганизмов и их процентное соотношение в пробах молока при воспалительных процессах молочной железы КРС

Комплексное содержание микроорганизмов в образцах	%
Грибы рода <i>Candida</i> + <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Streptococcus agalactiae</i>	16,72
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Streptococcus agalactiae</i>	15,97
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> + <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	33,24
<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Escherichia Coli</i> + грибы из рода <i>Candida</i> + другие виды грибов	16,70
<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Clostridium perfringens</i> + другие виды грибов	17,37

Выделенные МО, представленные в табл. 2, имели следующие ассоциации: грибы рода *Candida* + *Staphylococcus aureus* + *Streptococcus agalactiae*; *Staphylococcus aureus* + *Streptococcus agalactiae*; *Streptococcus dysgalactiae* + *Staphylococcus haemolyticus*; *Staphylococcus epidermidis* + *Escherichia Coli* + грибы из рода *Candida* + другие виды грибов; *Staphylococcus epidermidis* + *Clostridium perfringens* + грибы. Из пяти выделенных составов в двух присутствовали плесневые или мицеллярные виды грибов. Данные представлены на рис. 5.

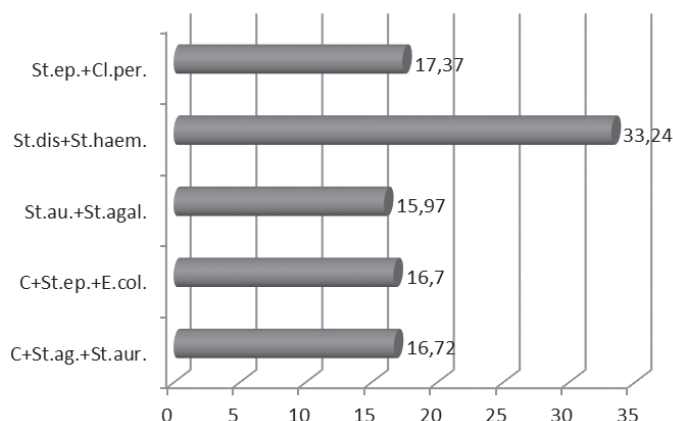


Рис. 5. Ассоциации микроорганизмов в исследуемых пробах молока КРС, %

Для лечения инфекционных заболеваний животных, как правило, применяются разные группы антибиотиков, в частности, без учета определения чувствительности к химиотерапевтическим препаратам. Учитывая тот факт и требования ВОЗ об ограниченном применении антибиотиков в животноводстве, перед нами встала задача: найти альтернативные методы применения химиотерапевтических препаратов для лечения воспалительных процессов микробной этиологии [1, 3].

Ранее в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный

химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации был разработан синтез получения субстанции производного тиадиазола. Углубленные доклинические и микробиологические исследования показали, что новый продукт органического синтеза обладает широким спектром действия против бактерий и грибов по сравнению с применяемыми антибактериальными средствами [2].

Под руководством профессора, доктора фармацевтических наук Е. В. Флисюк и кандидата фармацевтических наук Ю. М. Коцур была разработана лекарственная форма – 3%-й гель, обладающий противобактериальным и противогрибковым эффектами. В опытах *in vitro* и *in vivo* на мелких лабораторных животных гель показал высокую терапевтическую противогрибковую активность при воспалительных процессах различной этиологии [4].

Нами было установлено, что при воспалительном процессе в вымени (мастит) у коров происходят значительные изменения гематологических показателей крови. Опыты проводили на КРС ($n = 10$) в трех хозяйствах Смоленской области. Для лечения мастита КРС применяли новый разработанный препарат – 3%-й гель, который наносили в течение 12 дней после утренней и вечерней дойки путем втирания в вымя животных. У больных животных до и после лечения отбирали кровь и проводили анализ морфологических и биохимических показателей. Данные исследований представлены в табл. 3.

Таблица 3. Морфологические показатели крови животных

Показатель	Больные животные до лечения ($n = 10$)	Животные после лечения ($n = 10$)
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,02 \pm 0,14$	$6,34 \pm 0,05$
Гемоглобин, г/л	$102,62 \pm 3,49$	$113,67 \pm 3,06$
Гематокрит, %	$35,38 \pm 0,59$	$32,33 \pm 0,49^*$
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,19 \pm 0,11^{**}$	$7,41 \pm 0,17^*$
Нейтрофилы, %	$33,30 \pm 0,66$	$31,49 \pm 0,38$
Эозинофилы, %	$6,25 \pm 0,17^{**}$	$5,35 \pm 0,26^*$
Моноциты, %	$4,51 \pm 0,12^*$	$4,08 \pm 0,15$
Лимфоциты, %	$56,33 \pm 1,43$	$60,84 \pm 1,35^*$

* При $P < 0,05$.

** При $P < 0,01$.

Как видно из табл. 3, при развитии воспалительного процесса молочной железы КРС наблюдалось количество эритроцитов $6,02 \pm 0,14 \cdot 10^{12}/л$, гемоглобина $102,2 \pm 3,49$ г/л и лимфоцитов $56,33 \pm 1,43$ %. После применения изучаемой лекарственной формы на основе производного тиадиазола отмечено увеличение количества лейкоцитов на 5,32 %, гемоглобина 10,77 % и лимфоцитов на 8,01 %. В то время как количество нейтрофилов ($33,31 \pm$

$\pm 0,66$ %), эозинофилов ($6,25 \pm 0,16$ %), моноцитов ($4,50 \pm 0,11$ %) и гематокритов ($35,38 \pm 0,59$) снизилось на 5,43; 14,40; 9,53; 8,62 % соответственно. Полученные результаты были статистически достоверными.

Установлено, что при воспалительном процессе в вымени у коров происходят значительные изменения морфологических показателей крови, которые при эффективном лечении приходят в норму. При развитии воспалительного процесса наблюдался лейкоцитоз и снижение насыщенности крови гемоглобином.

В исследуемой группе животных также происходили изменения биохимических показателей крови. Так, при развитии патологического процесса в вымени коров по сравнению с другими животными после лечения наблюдался низкий уровень количества общего белка на 10,05 % и глюкозы – на 21,37 %. Одновременно отмечался достоверный повышенный уровень билирубина на 12,45 %, мочевины – на 8,67 % (табл. 4).

Таблица 4. Биохимические показатели крови здоровых и больных животных

Показатель	Больные животные до лечения ($n = 10$)	Животные после лечения ($n = 10$)
Общий белок, г/л	$74,62 \pm 2,42$	$82,12 \pm 3,31$
Билирубин, ммоль/л	$8,19 \pm 0,14^{**}$	$7,17 \pm 0,08^{**}$
Глюкоза, ммоль/л	$1,45 \pm 0,12$	$1,76 \pm 0,03$
Мочевина, ммоль/л	$3,46 \pm 0,07^*$	$3,16 \pm 0,06^*$
Креатинин, ммоль/л	$92,11 \pm 2,71$	$83,67 \pm 2,26$
Холестерин, ммоль/л	$4,21 \pm 0,09^{**}$	$3,18 \pm 0,11^*$
Щелочная фосфатаза, ед/л	$114,73 \pm 4,02$	$126,65 \pm 3,05$
Амилаза, ед/л	$668,33 \pm 4,52^*$	$642,67 \pm 5,68^{**}$

* При $P < 0,05$.

** При $P < 0,01$.

Содержание креатинина в крови животных, получающих лечение, составляло $83,67 \pm 2,27$ ммоль/л, в то время как при маститах его содержание было выше на 9,16 %. Уровень холестерина при воспалении молочных желез КРС оказался выше, чем после лечения, на 24,46 % ($P < 0,01$).

Нами в опытах было доказано, что при развитии мастита у коров уровень амилазы на 3,83 % ($P < 0,05$) выше, а щелочной фосфатазы ниже на 10,38 %. Из анализа полученных результатов следует, что развитие воспалительного процесса в вымени и применение эффективных химиотерапевтических препаратов широкого спектра действия оказывают значительное положительное влияние на изменения морфологических и биохимических показателей крови животных.

Закключение. Таким образом, исследование нового противомикробного препарата из группы производных 1,2,4-тиадиазола широкого спектра

действия на ПМ и УПМ при воспалительных процессах молочной железы КРС приводит к последующей нормализации морфологических и биохимических показателей крови животных, что свидетельствует о положительной динамике лечения и процессах выздоровления. Исследования продолжаются.

Литература и источники

1. *Всемирная организация здравоохранения* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/ru>. – Дата доступа: 26.06.2023.
2. *Изучение нового противогрибкового препарата для лечения животных* / А. М. Лунегов [и др.] // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии : сб. тр. 6-го Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов ЕАЭС, Витебск, 9–11 июня 2022 г. – 2022. – Режим доступа: <http://www.vsavm.by> – С. 124–126. – Дата доступа: 26.06.2023.
3. *Об утверждении Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации* [Электронный ресурс] : Распоряжение Правительства Российской Федерации, 25 сент. 2017 г., № 2045-р // КонсультантПлюс. Россия / ЗАО «КонсультантПлюс». – М., 2017.
4. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств* / под ред. А. Н. Миронова. – Ч. 1. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.

УДК 681.63-097:612.017.1

П. С. Погодаева,

кандидат ветеринарных наук

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

КОРРЕЛЯЦИЯ АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЛАКТИРУЮЩИХ МЫШЕЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Резюме. В патогенезе маститов основополагающую роль играет воздействие патогенных и условно-патогенных бактерий групп стафилококков, стрептококков и кишечной палочки. Учитывая наличие сложных механизмов реализации патогенности и вирулентности у этих групп возбудителей, а также постоянное увеличение количества антибиотикорезистентных штаммов, разработка и внедрение в ветеринарную практику новых методов лечения и профилактики маститов по-прежнему является актуальной задачей для современных ветеринарных специалистов. Наиболее перспективными в вопросах лечения и профилактики маститов бактериальной этиологии представляются методы антигенной стимуляции, теоретические основы которых на данный момент малоизученны.

Исследуя физиологические основы метода локальной антигенной стимуляции, мы оценили изменения в миграции клеток макрофагального ряда молочной железы и изменения в концентрации иммуноглобулинов классов А, М и G в плазме крови у лактирующих мышей, иммунизированных стафилококковой вакциной. В данной статье раскрыта взаимосвязь количества антигенпрезентирующих клеток молочной железы с концентрацией иммуноглобулинов в плазме крови путем расчета коэффициентов корреляции и интерпретированы полученные данные.

Ключевые слова: локальный иммунный ответ, молочная железа, иммуноглобулины, мыши, стафилококковая вакцина, корреляция

Summary. Studying the physiological basis of the method of local antigenic stimulation, we evaluated changes in the migration of mammary macrophage cells and changes in the concentration of immunoglobulins of classes A, M and G in blood plasma in lactating mice immunized with staphylococcal vaccine. In this article, we reveal the relationship between the number of antigen-presenting cells in the mammary gland and the concentration of immunoglobulins in blood plasma by calculating the correlation coefficients and interpreting the data obtained.

Keywords: local immune response, mammary gland, immunoglobulins, mice, staphylococcal vaccine, correlation

Введение. Разработка, исследование и внедрение в ветеринарную практику новых методов лечения и профилактики маститов является актуальной задачей для современных ветеринарных специалистов. В патогенезе маститов основополагающую роль играет воздействие патогенных и условно-патогенных бактерий групп стафилококков, стрептококков и кишечной палочки. Учитывая наличие сложных механизмов реализации патогенности и вирулентности у этих групп возбудителей, а также постоянное увеличение количества антибиотикорезистентных штаммов, наиболее перспективными в вопросах лечения и профилактики маститов бактериальной этиологии представляются методы антигенной стимуляции, теоретические основы которых на данный момент малоизученны [1].

Ранее в рамках исследования методики локальной антигенной стимуляции молочной железы мы оценили изменения в миграции клеток макрофагального ряда молочной железы и изменения в концентрации иммуноглобулинов классов А, М и G в плазме крови у лактирующих мышей, иммунизированных стафилококковой вакциной [2, 3].

На данном этапе **целью** нашей работы было оценить взаимосвязь количества антигенпрезентирующих клеток молочной железы с концентрацией иммуноглобулинов в плазме крови путем расчета коэффициентов корреляции и интерпретировать полученные данные.

Материалы и методы. В ходе изучения иммунологического потенциала молочной железы было доказано стимулирующее влияние локального применения термостабильных антигенов на количественные показатели клеток макрофагального ряда и показателей иммуноглобулинов сыворотки крови подопытных животных [2, 3].

Корреляционная зависимость антигенпрезентирующих клеток макрофагального ряда и иммуноглобулинов классов А, G и М в сыворотке крови была рассчитана на основании данных, полученных в ходе изучения локальной антигенной стимуляции молочной железы лактирующих мышей стафилококковой вакциной. Беременных мышей, составляющих опытные группы (30 особей), за 5–7 дней до родов обработали фабричной стафилококковой вакциной (производство АО «Биомед» им. И. И. Мечникова, Россия), введенной подкожно в область молочных желез. Для контрольной группы (30 особей) использовался стерильный изотонический раствор натрия хлорида, по аналогичной схеме. Отбор проб крови проводился в начале первой, второй и третьей недель лактации. Кровь для исследования отбирали согласно стандартным методикам. Для определения количества иммуноглобулинов в плазме использовали тесты ELISA Kit for Immunoglobulin A, G, M. Из патологоанатомического материала молочных желез изготовили гистологические препараты с окраской гематоксилин-эозином [2, 3]. Подсчет количества клеток проводили методом световой микроскопии в 100 полях зрения. Коэффициенты корреляции рассчитаны на компьютере с использованием пакета статистических программ Exel Statistica 6.0.

Результаты исследований. Коэффициенты корреляции антигенпрезентирующих клеток макрофагального ряда и иммуноглобулинов классов А, G и М в сыворотке крови (r) приведены в таблице.

Коэффициенты корреляции антигенпрезентирующих клеток макрофагального ряда и иммуноглобулинов классов А, G и М в сыворотке крови (r)

Опытная группа (r)	1-я неделя лактации	2-я неделя лактации	3-я неделя лактации
Макрофагальные клетки / IgA	–0,43	–0,19	0,22
Макрофагальные клетки / IgG	–0,14	–0,10	0,80
Макрофагальные клетки / IgM	0,11	0,72	0,61
Контрольная группа (r)	1-я неделя лактации	2-я неделя лактации	3-я неделя лактации
Макрофагальные клетки / IgA	0,74	0,03	–0,35
Макрофагальные клетки / IgG	0,62	–0,25	–0,01
Макрофагальные клетки / IgM	0,57	0,74	0,22

Согласно общепринятой интерпретации корреляционных коэффициентов, если корреляция положительная, то зависимость однонаправленная (чем больше одного, тем больше и другого), если корреляция отрицательная, то она разнонаправленная (чем больше одного, тем меньше другого). Чем ближе значение к единице (1 или –1), тем выше зависимость одного показателя от другого [4].

Изначальное отсутствие значительной положительной корреляции в опытной группе и ее нарастание к третьей неделе лактации объясняется тем, что в начале иммунной реакции количество антигенпрезентирующих клеток не оказывает серьезного влияния на уровень продукции иммуноглобулинов, так как данная реакция гуморального иммунного ответа реализуется главным образом за счет пула В-лимфоцитов и плазматических клеток организма.

Так, в первые две недели лактации мы видим повышение показателей иммуноглобулинов в сыворотке крови мышей, однако не видим значительной связи этого процесса с высоким количеством макрофагальных клеток в молочной железе. Однако для дальнейшего поддержания напряженности специфического иммунного ответа, индуцированного локальной антигенной стимуляцией, количество макрофагальных клеток, способных продолжать презентацию антигена, имеет решающее значение, что можно наблюдать по высоким показателям корреляции на третьей неделе лактации, особенно для иммуноглобулинов G и M.

Для контрольной группы, напротив, пик положительной корреляционной зависимости наблюдается на первой неделе лактации для всех классов иммуноглобулинов. Это обусловлено активным течением иммунных реакций, связанных с процессом беременности и начала лактации. В условиях отсутствия дополнительной антигенной стимуляции пик иммунологической активности тканей молочной железы должен приходиться на молозивный период и первые дни лактации, так как именно в этот момент детеныш должен получить максимальное количество компонентов колострального иммунитета.

Таким образом, на первой неделе лактации мы видим сильную положительную зависимость продукции иммуноглобулинов с количеством макрофагальных клеток, также принимающих активное участие в подготовке молочной железы к началу лактационного периода. Далее к третьей неделе лактации иммунные процессы в молочной железе постепенно снижают свою активность, что также отражено в снижении концентрации иммуноглобулинов, уменьшении количества макрофагальных клеток и переходе корреляционной зависимости из положительной в отрицательную.

Заключение. Установленная в исследовании положительная корреляционная зависимость количества антигенпрезентирующих клеток и концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови на третьей неделе лактации в опытной группе свидетельствует о важности клеток макрофагального ряда для поддержания напряженности специфического иммунного ответа, индуцированного локальной антигенной стимуляцией.

Литература

1. *Мастит*: этиология, профилактика, диагностика, лечение / С. В. Щепёткина [и др.]. – 2-е изд., доп. – СПб. : Санкт-Петербургская гос. академия ветеринарной медицины, 2020. – 308 с.
2. *Погодаева, П. С.* Влияние локальной антигенной стимуляции молочной железы / П. С. Погодаева, Л. Ю. Карпенко, В. С. Понамарев // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 126–130.
3. *Погодаева, П. С.* Особенности формирования локального иммунного ответа молочной железы / П. С. Погодаева, В. С. Понамарев // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны : материалы междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 19–20 ноября 2020 г. – СПб. : Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины, 2020. – С. 285–286.
4. *Бондарчук, С. С.* Основы практической биостатистики / С. С. Бондарчук, И. Г. Годованная, В. П. Перевозкин ; М-во образования Российской Федерации, Гос. образовательное учреждение высшего проф. образования «Томский государственный педагогический университет». – Томск : Томский гос. пед. ун-т, 2009. – 130 с.

6. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОДЕРЖАНИЯ И КОРМЛЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

УДК 636.4.082.454

Д. М. Богданович,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Н. В. Януть,

аспирант

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по
животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

ВОЗМОЖНОСТЬ ПОВЫШЕНИЯ ОПЛОДОТВОРЯЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ПОЛОВЫХ ГАМЕТ ХРЯКОВ

Резюме. В статье приводятся результаты исследований по изучению влияния квантов света синего и красного видимого спектра на оплодотворяющую способность спермы хряков. Исследования проведены на ремонтных хрячках породы йоркшир в возрасте 8–10 месяцев и хряках-производителях этой породы в возрасте 16–20 месяцев. Исследованиями установлено, что при трехкратном воздействии на ремонтных хрячков и хряков-производителей породы йоркшир квантами света синего и красного видимого спектра при помощи прибора АКФМ (аэрокосмофотоматериалов) в течение 30 мин каждые 3 ч в утреннее, дневное и вечернее время с расстоянием между излучателями и обрабатываемыми животными 2–3 м через месяц от начала обработки отмечено увеличение объема эякулята на 12 и 13 %, концентрации спермиев в 1 мл – на 10 и 17 %, подвижности половых гамет – на 8 и 15 %.

Ключевые слова: хряки, оплодотворяющая способность, половые гаметы, объем эякулята.

Summary. The article presents the results of studies on the influence of light quanta of the blue and red visible spectrum on the fertilizing ability of boar sperm. The studies were carried out on repair boars of the Yorkshire breed at the age of 8–10 months and boars-producers of this breed at the age of 16–20 months. Studies have established that with three-fold exposure to repair boars and Yorkshire boars by quanta of blue and red light of the visible spectrum using an ACFM device for 30 minutes every 3 hours in the morning, afternoon and evening with a distance between the emitters and the treated animals of 2–3 m a month after the start of treatment, there was an increase in the volume of ejaculate by 12 and 13 %, the concentration of sperm in 1 ml – by 10 and 17 %, the mobility of sexual gametes – by 8 and 15 %.

Keywords: boars, fertilizing ability, sexual gametes, ejaculate volume.

Введение. Эффективность производства свинины во многом зависит от правильной организации воспроизводства стада. В Республике Беларусь свиноводство является одной из ведущих отраслей животноводства и ведется более чем на 100 крупных комплексах по промышленной технологии с использованием искусственного осеменения. Приоритетным направлением в экономической политике является внедрение прогрессивных репродуктивных технологий. В этом отношении большое значение имеет качество спермы хряков.

Для повышения важнейших свойств спермиев: подвижности, поддержания на более высоком уровне биологической полноценности при хранении, целостности мембран и оплодотворяющей способности в настоящее время доказана возможность применения лазерно-оптических технологий. Эффект фотобиомодуляции получен при обработке спермы различного видового происхождения: млекопитающих (человека, быка, хряка, барана, лошади, собаки и др.), птиц и рыб. Функциональные изменения спермиев происходят при воздействии как когерентного лазерного излучения, так и узкополосного и широкополосного излучения светодиодных ламп.

При искусственном осеменении свиней исследованиями установлено перспективность использования лазерно-оптических технологий для улучшения биологической полноценности спермы хряков. Однако литературных данных недостаточно для установления типа источника излучения, его интенсивности, режима воздействия оптимальной длины волны и др. Отсюда следует, что необходимо проведение исследований зависимости функциональных характеристик спермиев от параметров воздействующего излучения.

Обеспечение нормального проявления воспроизводительной функции у животных имеет несколько путей решения. Использование фармакологических препаратов, содержащих в своем составе антибиотики, нейротропные, гормональные и другие биологически активные вещества, часто приводит к негативным явлениям: накоплению их в организме, нарушению гормонального статуса, бесплодию. В связи с этим полученные от них продукты питания содержат в себе остатки данных лекарств, что приводит к аллергической реакции человека на отдельные медикаменты.

Для поддержания жизнедеятельности биологической системы в организме животных на клеточном уровне происходит большое количество сложных физических, химических и структурных процессов. Для этого необходима энергия, которая поступает не только с питательными веществами кормов, но и при взаимодействии клеток с окружающей средой (свет, различные излучения и т. д.). Чувствительность к световой энергии является одной из основных характеристик или свойств живого, свет оказывает мощное стимулирующее воздействие на большинство функций

организма, что и определяет возможность его использования в лечебных целях. Множество фактов, полученных в результате продолжительных исследований, неопровержимо свидетельствуют о том, что свет вызывает изменения почти всех функций организма: функционального состояния центральной нервной системы, обмена веществ, деятельности эндокринных желез, состава крови и т. д.

Как показали ряд исследований [1, 2], качество спермы хряков подвержено сезонным колебаниям, что ограничивает регулярное получение ее с хорошей оплодотворяющей способностью в течение года. Ухудшение качества спермы приводит к дополнительным затратам, что негативно сказывается на экономике свиноводческой отрасли. Основными факторами окружающей среды, влияющими на качество эякулята хряка, являются фотопериод и температура. Кроме этого, независимо от температуры фотопериод влияет на гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось, регулирующую выработку сперматозоидов и созревание придатков яичек [3].

Изучено воздействие на хряков в течение 75 дней возрастающих и уменьшающихся фотопериодов естественного освещения, при взятии спермы два раза в неделю. В течение последних 2 недель каждого лечения изучали образцы спермы. Исследованиями установлено [4], что качество спермы хряков, подвергшихся воздействию уменьшающегося фотопериода, ухудшалось вследствие снижения концентрации сперматозоидов и количества доз спермы. По жизнеспособности и подвижности сперматозоидов, а также по осмотической устойчивости их к изотоническим и гипотоническим средам различий между увеличением и уменьшением фотопериода не выявлено. Установлены меньшая частота встречаемости зрелых и незрелых сперматозоидов с дистальной цитоплазматической каплей и значительно большее количество незрелых сперматозоидов с проксимальной каплей у хряков, подвергшихся воздействию уменьшающегося фотопериода. Отсюда следует, что качество спермы отобранных хряков снижалось при уменьшении фотопериода по сравнению с его увеличением, в основном из-за нарушения функции семенников [5, 6].

Общий индекс фрагментации ядерной ДНК сперматозоидов является признаком, связанным с проблемами фертильности и плодовитости, который обычно не оценивается у коммерческих хряков искусственного осеменения. Самые высокие значения фрагментации ядерной ДНК отмечены летом (максимальная длина дня для убывающей фазы фотопериода) [7, 8].

Сезонные колебания качества спермы могут быть связаны с изменениями фотопериода и теплового стресса летом. Данные исследования проведены для расширения знаний о составе спермы, и гарантирования получения доз с высокой оплодотворяющей способностью [9, 10].

Цель работы – изучить влияние квантов света синего и красного видимого спектра на оплодотворяющую способность половых гамет хряков-производителей и ремонтных хрячков.

Материалы и методы. Исследования проведены в ГП «ЖодиноАгро-ПлемЭлита» Минской области и лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» на ремонтных хрячках породы йоркшир в возрасте 8–10 месяцев и хряках-производителей данной породы в возрасте 16–20 месяцев. Получение, оценка и разбавление эякулятов осуществлялись согласно Инструкции по искусственному осеменению свиней (1998). Оценка подвижности и морфологии спермиев проводилась при 400-кратном увеличении на компьютерном спермоанализаторе «Spermvision» с использованием программного обеспечения IDEE (Minitube, Германия), обработка животных – прибором АКФМ, позволяющим за счет комбинации излучателей осуществлять биофизическое воздействие с определенными частотами.

Влияние расстояния до обрабатываемой поверхности животных изучали на одной контрольной и трех опытных группах, по 10–12 голов в каждой. От каждого хряка оценивалось по 3 эякулята. Животные контрольной группы биофизической обработке не подвергались. В I опытной группе излучатели располагались на высоте 1 м, во II опытной – 2 м, в III опытной – 3 м от животных. Через 7 суток после начала обработки изучали качество спермы по следующим показателям: объем эякулята (мл), концентрация (млн в 1 мл) и подвижность спермиев.

Влияние продолжительности обработки изучалось на одной контрольной и трех опытных группах по 10–12 голов в каждой. От каждого хрячка отбиралось по 3 эякулята. Животные контрольной группы биофизической обработке не подвергались. Хрячков I опытной группы обрабатывали квантами света по 10 мин каждые 3 ч, II опытной – по 20 мин каждые 3 ч, III опытной – по 30 мин каждые 3 ч в утреннее, дневное и вечернее время. Качество спермы оценивалось через 7 суток и спустя месяц после начала по следующим показателям: объем эякулята (мл), концентрация (млн в 1 мл) и подвижность спермиев (в баллах).

Изучение влияния квантов света проводилось на 12 хряках-производителях, от каждого оценивалось по 20 эякулятов. Контрольная группа животных биофизической обработке не подвергалась. Производителей I опытной группы обрабатывали квантами света по 10 мин каждые 3 ч, II опытной – по 20 мин каждые 3 ч, III опытной – по 30 мин каждые 3 ч. Обработка осуществлялась в утреннее, дневное и вечернее время. Оценка качества спермы проводилась через 7 суток (начало стимуляции) и спустя месяц после начала обработки по следующим показателям: объем (мл), концентрация (млн в 1 мл), подвижность (в баллах).

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что излучение видимой области спектра оказывает положительное влияние на формирование половых гамет хрячков в течение сперматогенеза (табл. 1).

Таблица 1. Качество спермы ремонтных хрячков

Группа	Количество эякулятов	Показатели спермы		
		объем, мл	концентрация, млн/мл	подвижность, баллов
I контрольная	30	255,0 ± 3,7	298,0 ± 1,98	7,4 ± 0,11
II опытная	30	260,0 ± 3,4*	310,8 ± 1,23**	7,7 ± 0,12*
III опытная	30	276,0 ± 3,7**	332,0 ± 1,75**	8,0 ± 0,08**
IV опытная	30	288,0 ± 3,7**	330,0 ± 1,45**	8,1 ± 0,09**

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$.

Так, у животных II опытной группы объем эякулята увеличился на 2 %, в III опытной группе – на 8 %, в IV опытной группе – на 13 %, концентрация спермиев в 1 мл – на 4; 11 и 10 %, подвижность клеток – на 4; 8 и 9 %, соответственно.

Продолжительность и кратность обработки излучением видимой области спектра также оказывает положительное влияние на количественные показатели спермы ремонтных хрячков (табл. 2).

Исследованиями установлено, что объем эякулята у хрячков II опытной группы увеличился на 4 %, в III – на 9 %, в IV – на 12 %, концентрация спермиев в 1 мл – на 7; 18 и 17 % и подвижность клеток – на 4; 11 и 12 % соответственно. Положительное воздействие, вероятно, оказывается вследствие избирательного поглощения красного излучения молекулами ферментов дыхательной цепи (цитохромоксидаза, цитохром C), антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза) и индукторов репаративной регенерации (елочная фосфатаза).

Таблица 2. Качество спермы ремонтных хрячков при разной продолжительности воздействия излучением видимой области спектра

Группа	Количество эякулятов	Показатели спермы		
		объем, мл	концентрация, млн/мл	подвижность, баллов
I контрольная	30	251,5 ± 4,37	294,4 ± 1,65	7,2 ± 0,13
II опытная	30	263,2 ± 2,71*	315,0 ± 1,64**	7,5 ± 0,09*
III опытная	30	274,0 ± 2,80**	340,3 ± 1,36**	8,0 ± 0,08**
IV опытная	30	283,4 ± 2,39**	345,8 ± 2,1**	8,1 ± 0,09**

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$.

Последующая активация катаболических процессов и стимуляция фибробластов соединительной ткани усиливают репаративную регенерацию пораженных тканей. Красный свет активизирует заблокированную в глубине энергию, повышает динамичность, выводит стагнированные, инертные и редуцированные процессы на достаточный уровень.

Установлено положительное влияние фотостимуляции ремонтных хрячков на подвижность половых клеток (табл. 3).

Таблица 3. Влияние квантовой фотостимуляции на подвижность половых гамет ремонтных хрячков

Группа, n = 30	Подвижность, баллов	
	до стимуляции	спустя 1 месяц
I контрольная	6,87 ± 0,17	6,97 ± 0,14
II опытная	6,83 ± 0,19	7,22 ± 0,20
III опытная	6,85 ± 0,19	7,43 ± 0,19
IV опытная	6,8 ± 0,22	7,83 ± 0,18

Через один месяц после начала обработки в зависимости от режима обработки у животных в опытных группах установлено повышение двигательной активности на 6; 8 и 15 % соответственно.

На количественные характеристики полученной спермопродукции квантовая фотостимуляция оказывает положительное влияние (табл. 4).

Таблица 4. Влияние квантовой фотостимуляции на количественные показатели спермы

Группа, n = 60	Количественные показатели			
	до стимуляции		спустя 1 месяц	
	объем, мл	концентрация, млрд/мл	объем, мл	концентрация, млрд/мл
I контрольная	283,1 ± 31,12	0,27 ± 0,02	285,0 ± 34,45	0,27 ± 0,03
II опытная	283,4 ± 23,33	0,28 ± 0,02	302,3 ± 22,41	0,30 ± 0,02
III опытная	277,7 ± 17,94	0,29 ± 0,02	310,5 ± 22,30	0,30 ± 0,01
IV опытная	281,1 ± 17,66	0,28 ± 0,01	316,4 ± 16,28	0,31 ± 0,01

В опытных группах установлено повышение объема эякулята и концентрации спермиев в 1 мл на 7; 11; 13 и 7; 3 и 10 % соответственно.

Синее излучение избирательно поглощается молекулами пиридиновых нуклеотидов гематопарфирина. Последующая активация дыхательной цепи способствует усилению гликолиза и липолиза в клетках и ускоряет процессы фотодеструкции билирубина до веществ, легко выводимых из организма и не оказывающих нейротоксического действия. Оно также снижает возбудимость нервных проводников. Синее излучение рекомендуется

к применению при заболеваниях центральной и периферической нервной системы, нарушениях пигментного обмена у новорожденных (гипербилирубинемия, гематопорфирия), заболеваниях ЛОР органов, кожи, хроническом вирусном гепатите. Синий свет возвращает порядок в сверхактивные, ускользающие и воспалительные процессы. По своему действию он является противоположным красному.

В табл. 5 представлены данные влияния квантовой фотостимуляции хряков-производителей на подвижность половых гамет.

Таблица 5. Влияние квантовой фотостимуляции хряков-производителей на подвижность половых гамет

Группа, n = 60	Подвижность, баллов	
	до стимуляции	спустя 1 месяц
I контрольная	7,1 ± 0,11	7,1 ± 0,11
II опытная	7,0 ± 0,13	7,2 ± 0,1
III опытная	7,1 ± 0,10	7,5 ± 0,08
IV опытная	7,1 ± 0,13	7,7 ± 0,08

Использование синего и красного спектра обеспечивает повышение подвижности спермиев хряков на 3; 6 и 8 %, соответственно, что в дальнейшем обеспечивает повышение эффективности производства свинины.

Закключение. Обработка ремонтных хряков квантами света синего и красного видимого спектра в течение 30 мин каждые 3 ч в утреннее, дневное и вечернее время с расстоянием между излучателями и обрабатываемыми животными 2–3 м в течение одного месяца способствует увеличению объема эякулята на 12 %, концентрации спермиев в 1 мл – на 17 %, подвижности половых гамет – до 15 %.

Воздействие на хряков-производителей квантами света синего и красного видимого спектра по 30 мин каждые 3 ч в утреннее, дневное и вечернее время через один месяц после начала обработок обеспечивает повышение объема эякулята на 13 %, концентрации спермиев в 1 мл спермы – на 10 %, подвижности спермиев – на 8 %.

Литература

1. *Effects of exposing boars to different artificial light regimens on semen plasma markers and «in vivo» fertilizing capacity* / S. Sancho [et al.] // *Theriogenology*. – 2006. – № 65. – С. 317–331.
2. *Effects of constant, 9 and 16-h light cycles on sperm quality, semen storage ability and motile sperm subpopulations structure of boar semen* / M. Rivera [et al.] // *Reprod Domest Anim.* – 2006. – № 41 (5). – P. 386–393.

3. Kumar, V. Light sensitivity of the photoperiodic response system in higher vertebrates: wavelength and intensity effects / V. Kumar, S. Rani // *Indian J. Exp. Biol.* – 1999. – № 37 (11). – P. 1053–1064.
4. *Medium-term effects* of the diluted pig semen irradiation with red LED light on the integrity of nucleoprotein structure and resilience to withstand thermal stress / O. Blanco-Prieto [et al.] // *Theriogenology*. – 2020. – № 15. – С 388–398.
5. *Semen* quality of postpubertal boars during increasing and decreasing natural photoperiods / S. Sancho [et al.] // *Theriogenology*. – 2004. – № 62. – P. 1271–1282.
6. Rodriguez-Gi, J. E. Photostimulation and thermotaxis of sperm: Overview and practical implications in porcine reproduction // *Theriogenology*. – 2019. – № 137. – P. 8–14.
7. *Red light* improves spermatozoa motility and does not induce oxidative DNA damage / D. Preece [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – Art. 46480.
8. *Photo* Stimulation of seminal doses with red LED light from Duroc boars and resultant fertility in Iberian sows / S. Crespo [et al.] // *Animals*. – 2021. – Vol. 11, № 6. – P. 1656.
9. *Boar* management and semen handling factor affect the quality of boar extended semen A. L. Rodrigues [et al.] // *Porcine Health Manag.* – 2017. – № 3. – P. 15.
10. *Specific* LED-based red light photo-stimulation procedures improve overall sperm function and reproductive performance of boar ejaculates / M. Yeste [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – № 6. – Art. 22569.

УДК 636.4.082.453.53

Д. М. Богданович,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РАЗБАВЛЕНИЯ И ЗАМОРАЖИВАНИЯ СПЕРМЫ ХРЯКОВ

Резюме. Разбавление и замораживание спермы хряков разработанной средой позволяет получить концентрацию ионов водорода 6,7–6,9 и осмотическое давление 310–315 мосм, минимизировать снижение двигательной активности эякулятов после дефростации до 4,5 балла, сохранить интактными до 51,1 % акросомных мембран и снизить число патологических форм спермиев до 17–20 %. Включение рекомбинантного лактоферрина человека в состав разбавителя способствует более высоким результатам санации спермы: установлено минимальное значение коли-титра (0,001) и отрицательное значение общего микробного числа микроорганизмов. Осеменение свиней эякулятами, разбавленными разработанной средой для криоконсервации, обеспечивает оплодотворяемость свиноматок на уровне 53,3 % и уровень многоплодия 10,1 гол./опорос.

Ключевые слова: свиньи, искусственное осеменение, сперма, разбавители, сохранность, оплодотворяемость, многоплодие.

Summary. Dilution and freezing of boar sperm with the developed medium allows to obtain a concentration of hydrogen ions of 6,7–6,9 and osmotic pressure of 310–315 mosm, minimize the decrease in motor activity of ejaculates after defrosting to 4,5 points, keep intact up to 51,1 %

of acrosome membranes and reduce the number of pathological forms of sperm to 17–20 %. The inclusion of recombinant human lactoferrin in the diluent contributes to higher results of sperm sanitation: a minimum value of the coli-titer (0,001) and a negative value of the total microbial number of microorganisms were established. Insemination of pigs with ejaculates diluted with the developed cryopreservation medium ensures the fertilization of sows at the level of 53.3 % and the level of multiple fertility of 10,1 heads/farrowing.

Keywords: pigs, artificial insemination, sperm, diluents, preservation, fertilization, multiple fertility.

Введение. При замораживании спермы с использованием разбавителя (трис-цитрат-глюкоза, состав: 3,8 % – трис-буфер, 2,2 % – лимонная кислота, 0,6 % – глюкоза, 5 % – глицерин и 6 % – яичный желток) установлено, что оплодотворяемость спермы, разбавленной с использованием куриного желтка, оказалась выше (63,3 % против 36,4 %) в сравнении с перепелиным желтком [1].

Криоконсервация в трех различных средах (трис-желточная, желток-цитрат-глюкозная, молочно-желточная) привела к разрушению акросом у 38–43 % из них [2, 3].

При разработке технологии заморозки [4] предлагается двукратное удаление плазмы спермы путем ее разбавления в растворе Рингера температурой 37 °C в соотношении 10 : 1 и центрифугировании 816 хг. Среда для заморозки в опыте состояла из трис-буфера (4,319 %), лимонной кислоты (1,821 %), декстрозы (1,0 %), яичного желтка (20 %), pH раствора было доведено до 7,2, осмотическое давление составило 323 мосм/кг.

В результате исследований, проведенных Ritar, Ball и O'May [5], установлено, что при 3-, 6- и 24-кратном разбавлении спермы не установлено различий в ее последующей оплодотворяющей способности, достигшей 63,9 %.

Отдельные ученые рекомендуют использовать в составе разбавителей спермы хряков различные компоненты и режимы заморозки [6–10].

При любом методе криоконсервации спермы одним из основных технологических приемов является использование многокомпонентных криозащитных сред, состав и свойства в значительной степени определяют эффективность процесса замораживания. В связи с этим дальнейшее совершенствование технологии приготовления сред для спермы хряков и повышение их криозащитных свойств имеет очень важное значение.

Цель работы – разработать технологию криоконсервации спермы хряков-производителей.

Материалы и методы. Исследования проведены в ГП «ЖодиноАгро-ПлемЭлита» Минской области и лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству». Использовались производители и породы йоркшир

в возрасте 16–20 месяцев. Получение и оценка эякулятов осуществлялись по Инструкции по искусственному осеменению свиней (1998).

В процессе исследований изучались следующие показатели: подвижность спермиев (баллы), концентрация водородных ионов (рН), осмотическое давление (мосм), скорость центрифугирования (об/мин.), продолжительность центрифугирования (мин). На первом этапе исследований проводилось комбинирование экспериментальных компонентов синтетической среды и последующее установление физико-химических параметров. Все компоненты, кроме антибиотиков, взвешивались и переносились в стерильные плоскодонные колбы на 500 мл. Вода стерилизовалась в водяной бане, затем охлаждалась до 35 °С, отмеривалась мерной стерильной колбой емкостью 250 мл и затем выливалась в колбы с компонентами разбавителя.

Для предварительного разбавления использовались следующие растворы: I опытная – ТСГ (трис-сахароза-глюкозный), II опытная – ГЦ (глюкозо-цитратный) и III опытная – ТГХЦС-К (трис-глюкозо-хелато-цитратно-сульфатная с крезацином).

Свежеполученные эякуляты разбавлялись экспериментальной средой и разделялись на четыре части (контроль, опыт 1, опыт 2, опыт 3). В контрольную среду в качестве санирующего препарата вводили гентамицин (40 мг/л среды), в I опытную – неомицин (6,0 тыс. ед.) + пенициллин (60 тыс. ед.) + стрептомицин (10 мг) + линкоспектин (85 мг), во II опытную – неомицин (4,5 тыс. ед.) + пенициллин (45 тыс. ед.) + стрептомицин (6 мг) + линкоспектин (60 мг) + 10 мг/доза рекомбинантного лактоферрина (ЛФ) человека, в III опытную – неомицин (3,0 тыс. ед.) + пенициллин (30 тыс. ед.) + стрептомицин (3 мг) + линкоспектин (40 мг) + 15 мг/доза рекомбинантного ЛФ человека.

В дальнейших исследованиях содержания в эякуляте изучали наличие патологических форм спермиев при просмотре под микроскопом специально приготовленных для этой цели мазков. Отобранные с помощью дозатора пипеточного образцы спермы хряка разбавляли 2,9%-м раствором натрия цитрата. Затем небольшую каплю разбавленной спермы наносили на каждое предметное стекло, а другим стеклом осторожно размазывали ее. Высушенные мазки в течение 2 мин окрашивали анилиновым генцианвиолетом, затем быстро промывали водой из-под крана и дистиллированной водой. После высыхания мазков дополнительно окрашивали их карболовым фуксином Циля в течение 10–15 с. В каждом мазке просматривали 100 спермиев и брали средний показатель, если различия не превышали 10 %.

Исследования проведены среди трех групп свиноматок (по 15 голов в каждой). Животных контрольной группы осеменяли свежеполученными эякулятами, разбавленными ГХЦС-средой, I опытной – замороженно-от-

таянной спермой с использованием разработанной нами среды, II опытной – замороженно-оттаянной спермой с использованием среды AndroMed (Minitube, Германия). Учитывались такие показатели, как оплодотворяемость, многоплодие (всего и на один опорос), крупноплодность.

Полученные данные обработаны биометрически с помощью программы Excel.

Результаты исследований. В соответствии с проведенным опытом установлено, что использование экспериментальных составов синтетических сред при разбавлении эякулятов не оказывает существенного влияния на гомеостаз половых гамет: по показателям концентрации водородных ионов и осмотическому давлению произошло выравнивание величин между свежеполученной спермой и разбавителями (табл. 1).

Таблица 1. Физико-химические показатели спермы хряков-производителей

Группа	Показатель	
	pH	осмос, мосм
Свежеполученная сперма, <i>n</i> = 47	7,03 ± 0,16	309,25 ± 1,75
Синтетическая среда		
Опыт 1	6,85 ± 0,12	313,5 ± 2,77
Опыт 2	6,87 ± 0,14	312,1 ± 2,84
Опыт 3	6,87 ± 0,14	312,0 ± 2,95
Разбавленная сперма, <i>n</i> = 47		
Опыт 1	6,88 ± 0,14	305,61 ± 2,21
Опыт 2	6,92 ± 0,14	307,7 ± 1,81
Опыт 3	6,97 ± 0,17	310,8 ± 2,24

Согласно анализу результатов физико-химических исследований растворов ТСГ, ГЦ и ТГХЦС-К установлено, что предлагаемая для предварительного разбавления спермы синтетическая среда (опыт 3) является изотоническим раствором, так как осмотическое давление данного разбавителя сходно с таковым у свежеполученных эякулятов.

При дефростации замороженных эякулятов происходят изменения физико-химических показателей (табл. 2).

Таблица 2. Динамика физико-химических показателей спермы хряков-производителей при замораживании-оттаивании

Сперма, <i>n</i> = 47	Опыт 1		Опыт 2		Опыт 3	
	pH	осмос, мосм	pH	осмос, мосм	pH	осмос, мосм
Свежеполученная разбавленная сперма	6,88 ± 0,14	305,61 ± 2,21	6,92 ± 0,14	307,7 ± 1,81	6,97 ± 0,17	310,8 ± 2,24
Замороженно-оттаянная	7,27 ± 0,15	328,48 ± 3,28	7,31 ± 0,18	329,22 ± 3,14	7,19 ± 0,21	322,29 ± 3,44

Более выравненные значения показателей отмечены в III опытной группе по сравнению с остальными.

В III опытной группе получены наилучшие результаты, где в комплексе антибактериальных препаратов использовали 15 мг/дозу рекомбинантного ЛФ человека – отсутствовали условно-патогенные и патогенные микроорганизмы и *общее микробное число*, низкий коли-титр.

В результате исследований установлено, что эякуляты контрольной и I опытной групп в большей степени подвержены снижению подвижности: разница составила 0,2 балла (табл. 3).

Таблица 3. Характеристика двигательной активности спермы хряков при использовании экспериментальных сред

Группа	Количество эякулятов	Подвижность, баллов	
		до разбавления	после разбавления
Контрольная	47	$6,9 \pm 0,15$	$6,7 \pm 0,18$
Опыт 1	47	$6,9 \pm 0,15$	$6,7 \pm 0,16$
Опыт 2	47	$6,9 \pm 0,15$	$6,8 \pm 0,18$
Опыт 3	47	$6,9 \pm 0,15$	$6,9 \pm 0,18$

В то же время компонентный состав среды III опытной группы являлся изотоническим к сперме, и уменьшения двигательной активности гамет не выявлено.

Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии удаления семенной плазмы на подвижность спермиев подопытных животных (табл. 4).

Таблица 4. Подвижность спермы при центрифугировании с использованием поддерживающей среды ТЛГ-К

Подвижность спермы, баллы, $n = 47$	Без центрифугирования	1500 об/мин, 7 мин	3000 об/мин, 5 мин
Свежеполученная разбавленная	$6,9 \pm 0,18$	$7,0 \pm 0,37$	$6,6 \pm 0,24$
Замороженно-оттаянная	$3,8 \pm 0,24$	$4,5 \pm 0,37$	$4,1 \pm 0,20$

При центрифугировании в течение 7 мин при скорости 1500 об/мин отмечены наилучшие показатели – подвижность замороженно-оттаянной спермы по сравнению с контрольной группой повысилась на 0,7 балла. В то же время более низкие значения изучаемого показателя (на 0,4 балла) при центрифугировании на 3000 об/мин объясняются, предположительно, деструктивным влиянием физических сил на спермии при более высокой скорости.

Среди экспериментальных составов более высокие результаты отмечены при применении комплекса «среда для предварительного разбавления + 2 % глицерина + 1 г BSA + 10%-й раствор диметилсульфоксида»

для криоконсервирования эякулятов – после дефростации двигательная активность снизилась на 2,49 балла или 36 %, в то время как в остальных опытных группах указанные изменения составили 2,8 балла или 41 % соответственно.

В эякулятах контрольной группы отмечено снижение двигательной активности на 1,3 балла или 19,4 %. Аналогичная тенденция прослеживается по результатам хранения эякулятов после оттаивания в течение 5 ч.

Наименьшие повреждения акросомных мембран отмечены в контрольной группе (табл. 5).

Среди различных экспериментальных сред по повреждениям акросомных мембран лучшие результаты выявлены в III опытной группе – 48,9 %, что на 4 п. п. уступает контрольной группе (табл. 5).

Таблица 5. Уровень акросомных деструкций при использовании различных сред для криоконсервации спермы

Группа, n = 47	Повреждения акросом, %	
	свежеполученная	замороженно-оттаянная
Контрольная	6,3 ± 0,34	44,9 ± 0,86
I опытная	5,2 ± 0,36	55,4 ± 0,94***
II опытная	5,11 ± 0,34	56,9 ± 0,96**
III опытная	5,61 ± 0,34	48,9 ± 0,89*

* $P < 0,05, 0,02$.

** $P < 0,01$.

*** $P < 0,001$.

В оставшихся группах установлены более значительные повреждения – 55,4 и 56,9 % соответственно.

В нативной сперме производителей количество аномальных спермиев составляло 3,5–6,5 % в I группе, 4,5–7,0 % – во II и 3,5–4,0 % – в III опытной группе. Очень незначительным был процент первичных аномалий спермиев (0,5 % – II и III опытные группы и 1,0 % – I опытная). Вторичные аномалии составляли 1,5–3,0 % – в I, 1,5–2,5 % – во II и 1,0–1,5 % – в III группах соответственно. Третичные аномалии составляли до 3,5 % – в I, до 4,0 % – во II и до 2,5 % – в III группах соответственно. Все это указывает на высокое качество спермы и соблюдение технологии ее получения.

После криоконсервации и дефростации последовательно количество патологических форм половых гамет увеличивалось и составило 20,5–25,5 % в I группе, 25,0–29,5 % – во II и 17,0–20,0 % – в III группах соответственно.

Аналогичная тенденция установлена и по степеням патологий. Кроме того, у одного из хряков II опытной группы после оттаивания отмечена некроспермия.

Заключение. Разбавление и замораживание спермы хряков разработанной средой позволяет получить концентрацию ионов водорода 6,7–6,9 и осмотическое давление 310–315 мосм, минимизировать снижение двигательной активности эякулятов после дефростации до 4,5 балла, сохранить интактными до 51,1 % акросомных мембран и снизить число патологических форм спермиев до 17–20 %.

Включение рекомбинантного лактоферрина человека в состав разбавителя способствует более высоким результатам санации спермы: установлено минимальное значение коли-титра (0,001) и отрицательное значение общего микробного числа микроорганизмов.

Осеменение свиней эякулятами, разбавленными разработанной средой для криоконсервации, обеспечивает оплодотворяемость свиноматок на уровне 53,3 % и уровень многоплодия 10,1 гол./опорос.

Литература

1. *A comparison of the protective action of chicken and quail egg yolk in the cryopreservation of Spanish ibex epididymal spermatozoa* / J. Santiago Moreno [et al.] // *Cryobiology*. – 2008. – Vol. 57 (1), № 25–9.
2. *Acrosome damage and enzyme leakage of goat spermatozoa during dilution, cooling and freezing* / M. S. Chauhan [et al.] // *Andrologia*. – 1994. – Vol. 26 (1), № 21–6.
3. *Artificial insemination of Angora- and Boergoats with deep-frozen semen* / R. Lawrenz // *J. S. Afr. Vet. Assoc.* – 1986. – № 57 (2). – P. 109–111.
4. *Semen Quality Characteristics of Dairy Goats* / J. E. Chandler [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 1988. – № 71. – P. 1638–1646.
5. *Ritar, A. J. Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females* / A. J. Ritar, P. D. Ball, P. J. O'May // *Reprod Fertil Dev.* – 1990. – № 2 (4). – P. 377–384.
6. *Cryopreservation of Spanish ibex (Capra pyrenaica) sperm obtained by electroejaculation outside the rutting season* / J. Santiago-Moreno [et al.] // *Theriogenology*. – 2009. – № 71 (8). – P. 1253–1260.
7. *Kundu, C. N. Effect of amino acids on goat cauda epididymal sperm cryopreservation using a chemically defined model system* // *Cryobiology* / C. N. Kundu, K. Das, G. C. Majumder. – 2001. – Vol. 42 (1), № 21–7.
8. *Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish ibex (Capra pyrenaica) epididymal spermatozoa* / J. Santiago-Moreno [et al.] // *Theriogenology*. – 2006. – № 66 (5). – P. 1219–1226.
9. *Chauhan, M. S. Effect of egg yolk lipids on the freezing of goat semen* / M. S. Chauhan, S. R. Anand // *Theriogenology*. – 1990. – № 34 (5). – P. 1003–1013.
10. *Effect of semen collection in extender solution on the characteristics of goat spermatozoa* // H. Yamashiro [et al.] // *J. Reprod. Dev.* – 2006. – № 52 (3). – P. 397–406.

В. Ф. Радчиков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор

А. Н. Кот,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Е. В. Петрушко,

ведущий научный сотрудник

Е. И. Приловская,

аспирант

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

ВОЗМОЖНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КОРМЛЕНИИ ТЕЛЯТ МОЛОКА КОЗ, СОДЕРЖАЩЕГО ЛАКТОФЕРРИН

Резюме. Использование в кормлении телят в возрасте 1–30 дней замороженно-оттаянного молока коз, содержащего лактоферрин, оказывает положительное влияние на физиологическое состояние животных, о чем свидетельствует увеличение содержания тромбоцитов на 3,9 %, мочевины – на 6,0 %. Наибольший зоотехнический эффект отмечен у молодняка, получавшего 0,44 и 0,66 л/голову в сутки козьего молока, содержащего лактоферрин. В результате среднесуточный прирост живой массы у них повысился на 14,4 и 17,3 %, затраты кормов снизились на 8,6–9,5 %. В связи с тем, что различия по продуктивности и затратам кормов между животными, потреблявшими 0,44 и 0,66 л/голову в сутки, незначительные, а расход молока, содержащего лактоферрин, увеличивается в 1,5 раза, можно отметить, что наиболее эффективная норма скармливания замороженно-оттаянного молока коз, содержащего лактоферрин, составляет 0,44 л на голову в сутки.

Ключевые слова: телята, рационы, молоко, лактоферрин, продуктивность, эффективность.

Summary. The use of frozen-thawed goat milk containing lactoferrin in feeding calves aged 1–30 days has a positive effect on the physiological state of animals, as evidenced by an increase in platelet content by 3,9 %, urea – by 6,0 %. The greatest zootechnical effect was observed in young animals receiving 0,44 and 0,66 liters / head per day of goat's milk containing lactoferrin. As a result, their average daily live weight gain increased by 14,4 and 17,3 %, feed costs decreased by 8,6–9,5 %. Due to the fact that the differences in productivity and feed costs between animals that consumed 0,44 and 0,66 liters / head per day are insignificant, and the consumption of milk containing lactoferrin increases by 1,5 times, it can be noted that the most effective rate of feeding frozen-thawed goat milk containing lactoferrin is 0,44 liters per head per day.

Keywords: calves, rations, milk, lactoferrin, productivity, efficiency.

Введение. В настоящее время ведение животноводства во многом связано с использованием противомикробных препаратов для профилактики заболеваний животных. Такие действия нередко связаны с потенциальным риском появления и распространения микроорганизмов, устойчивых к противомикробным препаратам [1–3]. Разработка альтернатив противомикробным препаратам для минимизации потерь, связанных с заболеваниями инфекционной и неинфекционной природы, является очевидной потребностью в животноводческой отрасли. В связи с этим много исследований сосредоточено на использовании природных антибактериальных белков, таких как лактоферрин (Lf), в качестве добавки для лечения бактериальных инфекций без использования антибиотиков, механизм действия которых заключается в том, чтобы не только подавить развитие патогенных факторов, но и повысить иммунитет животных [4–6].

В результате проведенных исследований доказано, что бактерицидный эффект Lf обусловлен наличием специфических лактоферриновых рецепторов на клеточной поверхности микроорганизмов: он связывается с липополисахаридами бактериальных стенок, а входящая в состав белка окисленная форма железа активизирует их перекисное окисление. Доказано, что лактоферрин разрушает бактериальную мембрану и проникает внутрь клетки [7].

Одним из механизмов противовирусной активности Lf является предотвращение адгезии вирусных частиц на поверхность клеток-мишеней за счет связывания с липопroteинами клеточных мембран, препятствуя связыванию с ними вирусных частиц. Лактоферрин напрямую связывается с вирусными частицами и сдерживает их проникновение в клетки. Этапом в развитии противовирусной активности белка является ингибирование вирусной репликации уже после попадания вируса в клетку путем регуляции синтеза натуральных киллеров гранулоцитов и макрофагов – клеток, которые играют решающую роль на ранних стадиях развития вирусной инфекции.

Установлен также противогрибковый механизм действия белка, на основании чего предложено использование лактоферрина совместно с противогрибковыми препаратами в терапии заболеваний, вызываемых штаммами с лекарственной устойчивостью [8, 9].

Телята, получавшие 1 и 10 г/сутки Lf в течение периода до отъема, весили больше, употребляли больше корма и имели более высокий среднесуточный привес в сравнении с контрольной группой. Животные, получавшие 1 г/день Lf, имели среднесуточный привес перед отлучением от матери выше, чем телята, получавшие 10 г/день Lf, что позволило предположить, что кишечник новорожденного теленка лучше адаптирован для использования низкого уровня Lf. Количество Lf 1 г/сутки способно улуч-

шить здоровье животного в период до отъема. В результате более развитая слизистая оболочка кишечника будет обладать большей усвояемой способностью, что позволит теленку поглощать больше питательных веществ из корма [10].

Цель работы – изучить эффективность использования в кормлении телят замороженно-оттаянного молока коз, содержащего рекомбинантный лактоферрин.

Материалы и методы. Исследования проведены на четырех группах телят (табл. 1).

Таблица 1. Схема исследований

Группа	Количество животных, голов	Продолжительность опыта, дней	Возраст животных в начале опыта, дней	Особенности кормления
I контрольная	10	30	2–4	Основной рацион (ОР) – (молочный корм + концентрированные корма)
II опытная	10	30	2–4	ОР + замороженно-оттаянное молоко коз с рекомбинантного лактоферрина (рекЛФ) 0,22 л
III опытная	10	30	2–4	ОР + замороженно-оттаянное молоко коз с рекЛФ 0,44 л
IV опытная	10	30	2–4	ОР + замороженно-оттаянное молоко коз с рекЛФ 0,66 л

Различия в кормлении заключались в том, что животные II, III и IV опытных групп в составе молочных кормов получали замороженно-оттаянное молоко коз, содержащее рекЛФ в количестве 0,22 и 0,44 и 0,66 л/гол./сутки соответственно.

При проведении исследований химический состав кормов, используемых в опытах, определялся по схеме общего зоотехнического анализа. В кормах определялись: массовая доля сухого вещества – по ГОСТ 13496.3-92; массовая доля сырого протеина – по ГОСТ 13496.4-93, п. 2 с применением автоматического анализатора UDK-159; массовая доля сырого жира – по ГОСТ 13496.15-97; массовая доля сырой золы – по ГОСТ 26226-95, п. 1; массовая доля сырой клетчатки – по ГОСТ 13496.2 с применением полуавтоматического анализатора FIWE 6. Учет потребленных кормов проводился путем проведения контрольных кормлений.

Морфо-биохимический состав крови определялся на приборах «Ассент 200» и «Multivet».

Интенсивность роста и уровень среднесуточных приростов животных – путем индивидуального взвешивания при постановке и снятии с опыта.

Концентрация рекЛФ осуществлялась методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с помощью лабораторной тест-системы «ИФА-рекЛФ» производства ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», предназначенной для количественного определения рекомбинантного лактоферрина человека в молоке трансгенных коз.

Размораживание молока коз-продуцентов рекЛФ в жидкой среде проводилось в водяной бане GFL 1102-1113 (Германия).

Цифровой материал проведенных исследований обработан методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием пакета анализа табличного процессора Microsoft Office Excel 2019.

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что замораживание, хранение и последующее оттаивание сырья в условиях воздушного термостата при температуре 45–50 °С оказало влияние на содержание рекомбинантного белка: до замораживания средняя его концентрация в свежем молоке составляла 3,28 г/л, тогда как после оттаивания – 2,58 г/л. Концентрация снизилась на 0,64 г/л (21 %).

Рацион телят состоял из цельного коровьего молока, замороженно-оттаянного молока коз-продуцентов рекЛФ и концентратов, состоящих из комбикорма КР-1 и смеси дробленого зерна кукурузы и овса в равной пропорции (табл. 2).

В составе концентрированных кормов доля зерносмеси составила 40 %. Основу рациона телят составило цельное коровье молоко, которое скармливали согласно схеме выпойки. В опытных группах часть молока заменили замороженно-оттаянным молоком коз-продуцентов. Как показали результаты исследований, молочные корма телята потребляли в полном объеме без остатка.

Таблица 2. Рацион подопытных телят (по фактически съеденным кормам)

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
<i>Вид корма</i>				
Молоко коровье цельное, л	5,60	5,38	5,16	4,94
Замороженно-оттаянное молоко коз-продуцентов рекЛФ, л	–	0,22	0,44	0,66
Смесь концентратов (КР-1 + кукуруза + овес), кг	0,28	0,30	0,34	0,36
<i>Содержание питательных веществ в 1 кг рациона</i>				
Кормовые единицы	2,00	2,01	2,04	2,05
Обменная энергия, МДж	15,80	16,00	16,50	16,70
Сухое вещество, г	969	983	1014	1029
Сырой протеин, г	241,40	243,60	248,90	251,10
Сырой жир, г	215,30	215,60	216,60	216,90
Сырая клетчатка, г	12,50	13,40	15,20	16,10

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Крахмал, г	91,30	97,80	110,80	117,40
Сахар, г	280,00	279,10	278,60	277,80
Кальций, г	9,06	9,19	9,44	9,57
Фосфор, г	8,23	8,33	8,55	8,66
Магний, г	0,97	1,00	1,06	1,09
Калий, г	10,06	10,22	10,54	10,70
Сера, г	2,84	2,89	2,97	3,02
Железо, мг	50,90	52,14	54,61	55,85
Медь, мг	4,28	4,46	4,84	5,02
Цинк, мг	27,64	28,41	29,96	30,73
Марганец, мг	27,32	29,15	32,81	34,64
Кобальт, мг	0,68	0,72	0,79	0,83
Йод, мг	0,44	0,45	0,46	0,47

Концентрированные корма животные получали вволю, в связи с чем скормливание молока с содержанием лактоферрина положительно повлияло на потребление концентратов. Так, во второй группе поедаемость зерносмеси и комбикорма увеличилась на 7,1 %, в третьей – на 21,4, а в четвертой – на 28,5 %.

В суточном рационе подопытный молодняк получал 0,97–1,03 кг/голову сухого вещества. Содержание обменной энергии в сухом веществе кормов опытных групп составило 16,2–16,3 МДж/кг. Доля сырого протеина находилась на уровне 25 %. Соотношение кальция к фосфору составило 1,1 : 1.

Исследованиями установлено, что все изучаемые гематологические показатели находились в пределах физиологических норм (табл. 3)

Таблица 3. Гематологические показатели подопытных телят

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Эритроциты, $10^{12}/л$	$8,39 \pm 0,18$	$8,08 \pm 0,10$	$8,46 \pm 0,09$	$8,32 \pm 0,22$
Лейкоциты $10^9/л$	$8,45 \pm 0,20$	$8,27 \pm 0,05$	$8,20 \pm 0,05$	$8,60 \pm 0,08$
Тромбоциты, $10^9/л$	$364,30 \pm 7,12$	$378,70 \pm 9,49$	$367,30 \pm 9,84$	$372,3 \pm 5,17$
Гемоглобин, г/л	$110,80 \pm 2,50$	$111,60 \pm 3,05$	$110,17 \pm 2,55$	$110,83 \pm 2,07$
Общий белок г/л	$63,34 \pm 0,59$	$62,57 \pm 0,240$	$62,44 \pm 0,25$	$62,74 \pm 1,20$
Альбумины г/л	$33,89 \pm 0,46$	$34,22 \pm 0,50$	$34,28 \pm 0,37$	$34,69 \pm 0,59$
Глобулины г/л	$29,45 \pm 0,72$	$28,35 \pm 0,34$	$28,15 \pm 0,42$	$28,04 \pm 0,76$
Мочевина, ммоль/л	$4,53 \pm 0,23$	$4,80 \pm 0,060$	$4,40 \pm 0,10$	$4,27 \pm 0,13$
АЛТ, ед/л	$33,64 \pm 0,83$	$33,94 \pm 0,77$	$33,07 \pm 0,14$	$34,02 \pm 0,32$
АСТ, ед/л	$39,65 \pm 0,64$	$39,81 \pm 0,31$	$39,31 \pm 0,64$	$39,93 \pm 0,45$
Глюкоза, ммоль/л	$4,45 \pm 0,05$	$4,50 \pm 0,05$	$4,29 \pm 0,05$	$4,43 \pm 0,08$
Кальций, ммоль/л	$2,79 \pm 0,15$	$2,70 \pm 0,09$	$2,64 \pm 0,03$	$2,85 \pm 0,07$

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Фосфор, ммоль/л	1,73 ± 0,09	1,78 ± 0,09	1,76 ± 0,13	1,81 ± 0,10
Железо, мкг, %	122,70 ± 4,60	123,20 ± 3,78	124,20 ± 4,88	124,4 ± 2,11
Гематокрит, %	31,61 ± 0,42	30,64 ± 0,88	30,99 ± 0,96	30,44 ± 0,15

Использование в кормлении телят замороженно-оттаянного молока коз-продуцентов рекЛФ оказало некоторое влияние на состав крови подопытных животных. Так, в крови молодняка второй опытной группы отмечено увеличение содержания тромбоцитов на 3,9 %, мочевины – на 6,0 %. У животных четвертой группы увеличилось содержание фосфора на 4,6 %. В то же время в крови телят опытных групп установлена тенденция снижения уровня глобулинов на 3,7–4,8 % и гематокрита – на 2,0–3,7 %. Остальные показатели крови значительно не изменились.

Добавление замороженно-оттаянного молока коз-продуцентов рекЛФ при кормлении телят оказало положительное влияние на энергию роста и эффективность использования питательных веществ рациона (табл. 4).

Таблица 4. Продуктивность подопытных телят и затраты кормов

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса, кг:				
в начале опыта	34,3 ± 0,4	33,9 ± 0,30	34,2 ± 0,40	33,7 ± 0,30
в конце опыта	48,8 ± 0,6	49,0 ± 0,40	50,2 ± 0,50	49,8 ± 0,30
Валовой прирост, кг	14,5 ± 0,2	15 ± 0,2	15,9 ± 0,3*	16,1 ± 0,2*
Среднесуточный прирост:				
г	482,3 ± 6,7	501 ± 5,40	530,9 ± 9,4*	535,3 ± 5,3*
в % к контролю	100	103,9	110,1	111,0
Затраты кормов на 1 кг прироста:				
корм. ед.	4,15	4,01	3,84	3,83
в % к контролю	100	96,8	92,7	92,7

* $P < 0,05$.

Включение в рацион телят третьей и четвертой опытных групп 0,44 и 0,66 л/голову в сутки молока коз-продуцентов, содержащего лактоферрин, способствовало достоверному увеличению среднесуточных приростов живой массы на 10,1–11,0 %. Во второй группе продуктивность также повысилась на 3,9 %.

Затраты кормов на получение прироста в опытных группах снизились на 3,2–7,3 % и составили 3,83–4,01 корм. ед. на 1 кг прироста.

Закключение. Использование в кормлении телят в возрасте 1–30 дней замороженно-оттаянного молока коз, содержащего лактоферрин, оказы-

вает положительное влияние на физиологическое состояние животных, о чем свидетельствует увеличение содержания тромбоцитов на 3,9 %, мочевины – на 6,0 %. Наибольший зоотехнический эффект отмечен у молодняка, получавшего 0,44 и 0,66 л/голову в сутки козьего молока, содержащего лактоферрин. В результате среднесуточный прирост живой массы у них повысился на 14,4 и 17,3 %, затраты кормов снизились на 8,6–9,5 %. В связи с тем, что различия по продуктивности и затратам кормов между животными, потреблявшими 0,44 и 0,66 л/голову в сутки, незначительные, а расход молока, содержащего лактоферрин, увеличивается в 1,5 раза, можно отметить, что наиболее эффективная норма скармливания замороженно-оттаянного молока коз, содержащего лактоферрин, составляет 0,44 л/голову в сутки.

Литература

1. *Кормовые добавки* в рационах молодняка крупного рогатого скота / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 258–262.
2. *Продуктивность* молодняка крупного рогатого скота в зависимости от содержания в рационе расщепляемого протеина / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 262–267.
3. *Регулирование* обменной энергии в рационе за счет рапсового масла / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 271–276.
4. *Природная* кормовая добавка в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 253–257.
5. *Эффективность* скармливания молодняку крупного рогатого скота новой энергетической добавки / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 267–271.
6. *Продуктивные* и воспроизводительные показатели племенных бычков в зависимости от качества протеина в рационе / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 299–304.
7. *Богданович, Д. М.* Экспрессия рекомбинантного лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов в течение года / Д. М. Богданович, Е. В. Петрушко // *Новости науки в АПК*. – 2018. – Т. 1, № 2 (11). – С. 168.
8. *Влияние* скармливания экструдированного обогатителя на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 290–294.
9. *Влияние* рекомбинантного лактоферрина человека на биологическую полноценность и санитарное качество спермы хряков / Д. М. Богданович [и др.] // *Зоотехническая наука Беларуси*. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 21–28.

10. *Богданович, Д. М.* Микробиологические показатели и количество соматических клеток при хранении молока коз-продуцентов RHLF второго и третьего года лактации / Д. М. Богданович, А. И. Будевич, Е. В. Петрушко // Новые подходы к разработке технологий производства и переработки сельскохозяйственной продукции : материалы междунар. науч.-практ. конф. ; под общ. ред. И. Ф. Горлова. – 2018. – С. 135–140.

УДК 636.22/28.033; 636.22/28.034/.087

А. Н. Кот,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

В. П. Цай,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

А. М. Глинкова,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

Т. Л. Сапсалёва,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

В. Ф. Радчиков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор¹

Г. В. Бесараб,

научный сотрудник¹

В. А. Люндышев,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент²

¹*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный аграрный технический университет,
г. Минск, Республика Беларусь*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕНИЯ МОЛОКА ЗАМЕНИТЕЛЕМ ЦЕЛЬНОГО МОЛОКА В РАЦИОНАХ ТЕЛЯТ

Резюме. Разработана схема выпойки телят в возрасте 10–65 дней с продолжительностью молочного периода 65 дней. Установлено влияние опытного заменителя цельного молока (ЗЦМ) на продуктивность и физиологическое состояние племенного молодняка

крупного рогатого скота. Выпойка ЗЦМ телятам в возрасте 10–65 дней, согласно разработанной схеме, оказывает положительное влияние на поедаемость кормов, способствует усилению окислительно-восстановительных процессов: повышается содержание гемоглобина в крови на 5,1 %, общего белка на – 3,2 %, глюкозы – на 4,2 % при снижении мочевины на 2,5 %.

Ключевые слова: молодняк крупного рогатого скота, цельное молоко, ЗЦМ, рационы, кровь, продуктивность, эффективность.

Summary. A scheme for drinking calves aged 10–65 days with a duration of the milk period of 65 days has been developed. The influence of an experimental whole milk substitute on the productivity and physiological state of breeding young cattle has been established. Drinking ZCM to calves aged 10–65 days, according to the developed scheme, has a positive effect on feed consumption, contributes to the strengthening of redox processes: the content of hemoglobin in the blood increases by 5,1 %, total protein by 3,2 %, glucose by 4,2 % with a decrease in urea by 2,5 %.

Keywords: young cattle, whole milk, ZCM, rations, blood, productivity, efficiency.

Введение. Система кормления молодняка крупного рогатого скота должна вестись с учетом его биологических особенностей и способствовать нормальному росту, развитию, формированию высокой продуктивности и крепкой конституции, продлению сроков хозяйственного пользования животных [1–3].

У ремонтного молодняка крупного рогатого скота с раннего возраста необходимо развивать способность к потреблению большого количества грубых, сочных и зеленых кормов, ЗЦМ, в раннем приучении его к потреблению объемистых и концентрированных кормов, это позволит значительно снизить затраты молока и экономическую эффективность выращивания ремонтных телок. В этих условиях важно осуществлять полноценное и сбалансированное кормление, базирующееся на удовлетворении потребностей растущих животных в энергии, питательных и биологических активных веществах по периодам роста [4, 5].

Основными кормами в молочный период являются жидкие молочные корма, остальная часть рациона состоит из комбикормов-стартеров, сена или травяной резки. Кормление телят раннего возраста должно обеспечивать рациональное сочетание полноценного питания по типу моногастрического животного при одновременном целенаправленном стимулировании развития функции преджелудков [6, 7].

Включение в рацион телят заменителей цельного молока позволяет сократить срок выйки молока до 7–10 дней, а его количество до 50–60 кг на голову. Однако для успешного применения заменителей цельного молока необходимо придерживаться определенных требований. По питательной ценности ЗЦМ должны быть эквивалентны цельному молоку, а по отдельным показателям превосходить его [8–10].

Цель исследований – изучить эффективность выращивания телят с использованием заменителя цельного молока.

Материалы и методы. В процессе исследований проведен научно-хозяйственный опыт на двух группах телят средней живой массой в начале опыта 37,3–37,8 кг, по 10 голов в каждой, в течение 55 дней (табл. 1).

Таблица 1. Схема опыта

Группа	Количество животных, голов	Продолжительность опыта, дней	Характеристика кормления
I контрольная	10	55	Основной рацион (ОР) – цельное молоко, сено, комбикорм КР-1
II опытная	10	55	ОР + ЗЦМ

Различие в кормлении подопытных животных заключалось в том, что телятам контрольной группы выпаивали молоко цельное, а их аналогам из опытной группы – заменитель цельного молока.

В процессе проведения опыта использованы зоотехнические, биохимические и математические методы анализа и изучены следующие показатели: химический состав, питательность и поедаемость кормов, морфо-биохимический состав крови, интенсивность роста животных, затраты кормов на производство продукции, экономическую эффективность выращивания телят.

Цифровой материал обработан методом вариационной статистики с учетом критерия достоверности по Стьюденту с использованием программного пакета Microsoft Excel.

Результаты исследований. В ходе опытов установлено, что в 1 кг натурального корма сена злакового, используемого в рационах телят, количество сухого вещества составляло 903,5 г, сырого протеина – 89,1, сырого жира – 19,3, сырой клетчатки – 244,8, золы – 49,7, *безазотистых экстрактивных веществ* (БЭВ) – 500,5 г.

В 1 кг опытного заменителя цельного молока содержалось 949 г сухого вещества, сырого протеина – 211,7 г, сырого жира – 111,4 г, золы – 56,0 г, БЭВ – 570 г.

Содержание основных питательных веществ в одном килограмме цельного молока составило: сухого вещества – 138 г, сырого протеина – 35 г, сырого жира – 36 г.

Исследованиями установлено, что во время опыта телята с рационом получали 1,62–1,64 кг сухого вещества (см. табл. 2).

На 1 МДж обменной энергии приходилось 12,9 и 12,0 г переваримого протеина.

В 1 кг сухого вещества находилось в пределах 14,2 и 13,0 МДж обменной энергии. Кальциево-фосфорное отношение – на уровне 1,36 и 1,23 : 1.

Изучение морфо-биохимического состава крови имеет важное значение в оценке полноценности питания и продуктивных качеств животных, по-

скольку кровь является средой, через которую клетки организма получают из внешней среды все необходимые для жизнедеятельности питательные вещества и выделяют продукты обмена.

Таблица 2. Рацион подопытных телят (по фактически съеденным кормам)

Показатель	Группа			
	I		II	
	кг	%	кг	%
<i>Вид корма</i>				
Комбикорм КР-1	0,55	25,0	0,58	26,92
Молоко цельное	6,0	74,0	—	—
ЗЦМ разбавленный, л	—	—	6,0	69,6
Сено злаковое	0,4	5,4	0,43	5,9
<i>Содержание питательных веществ в 1 кг рациона</i>				
Кормовые единицы	2,64		2,60	
Обменная энергия, МДж	23,1		19,3	
Сухое вещество, кг	1,62		1,64	
Сырой протеин, г	342,6		306,3	
Переваримый протеин, г	298,0		255,8	
Сырой жир, г	247,1		221,9	
Сырая клетчатка, г	116,9		136,5	
Крахмал, г	127,8		134,8	
Сахар, г	330,3		271,1	
Кальций, г	14,5		10,5	
Фосфор, г	10,7		8,5	
Натрий, г	1,0		1,0	
Магний, г	1,4		1,5	
Калий, г	13,5		15,4	
Сера, г	3,4		2,9	
Железо, мг	96,8		96,9	
Медь, мг	7,3		7,4	
Цинк, мг	58,8		58,9	
Марганец, мг	80,0		103,4	
Кобальт, мг	2,7		2,33	
Йод, мг	2,6		1,0	
Каротин, мг	46,0		14,1	
Витамин А, тыс. МЕ	18,6		52,8	
Витамин D, тыс. МЕ	130,6		88,0	
Витамин Е, мг	91,9		128,2	

Морфологические и биохимические показатели изменяются в определенных границах в зависимости от условий кормления, качественного состава корма, интенсивности роста и ряда других факторов, при этом сохраняя в определенной степени постоянство внутренней среды.

В результате изучения гематологических показателей установлено, что выпаивание заменителя цельного молока не оказало отрицательного влияния на состав крови подопытных животных (табл. 3).

Таблица 3. Морфо-биохимический состав крови подопытных телят

Показатель	Группа		Физиологическая норма
	I	II	
Эритроциты, $10^{12}/л$	$4,45 \pm 0,5$	$4,57 \pm 0,2$	4,5–7,5
Лейкоциты, $10^9/л$	$13,6 \pm 0,4$	$11,3 \pm 0,9$	4,5–12
Гемоглобин, г/л	$99 \pm 2,4$	$104 \pm 1,2$	90–120
Общий белок, г/л	$52,7 \pm 0,6$	$54,4 \pm 0,7$	60–85
Глюкоза, ммоль/л	$4,8 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,2$	3,58–5,66
Мочевина, ммоль/л	$3,54 \pm 0,9$	$3,63 \pm 0,9$	2,5–8,0
Кальций, ммоль/л	$2,48 \pm 0,15$	$2,61 \pm 0,18$	2,2–3,3
Фосфор, ммоль/л	$1,84 \pm 0,07$	$1,88 \pm 0,09$	1,4–2,5
Тромбоциты, $10^9/л$	$544 \pm 4,7$	$446 \pm 5,3$	260–700

Исследованиями установлено, что все изучаемые гематологические показатели находились в пределах физиологических норм, при незначительном отклонении по лейкоцитам и общему белку. Анализ проб показал, что в крови животных опытной группы отмечено увеличение содержания гемоглобина – на 5,1 %, общего белка – на 3,2, глюкозы – на 4,2, кальция – на 5,2 и фосфора – 2,2 %. Вместе с тем концентрация мочевины снизилась на 2,5 %, что указывает на более эффективное использование азота в организме.

Живая масса и скорость телят являются основными показателями выращивания телят. Динамика роста телят представлена в табл. 4.

Таблица 4. Изменение живой массы и среднесуточные приросты

Показатель	Группа	
	I	II
Живая масса, кг:		
в начале опыта	$37,3 \pm 0,7$	$37,8,0 \pm 0,5$
в конце опыта	$70,0 \pm 2,1$	$69,3 \pm 2,8$
Валовой прирост, кг	$32,7 \pm 2,1$	$31,5 \pm 1,99$
Среднесуточный прирост, г	$595,0 \pm 35,0$	$573,0 \pm 47,5$
в % к контролю	100,0	96,3
Затраты кормов на кг прироста, кормовых единиц	4,08	4,14

Согласно исследованиям установлено, что наибольшей энергией роста обладали телята, потреблявшие рацион с цельным молоком, в связи с чем валовой прирост животных I группы за время опыта оказался выше по отношению к животным II группы на 3,7 %.

Расчет экономической эффективности использования опытного ЗЦМ представлен в табл. 5.

Таблица 5. Экономическая эффективность использования заменителя цельного молока для телят

Показатель	Группа	
	I	II
Стоимость разбавленного ЗЦМ, руб./л	—	0,47
Стоимость цельного молока, руб./кг	0,57	—
Стоимость комбикорма КР-1, руб./кг	1,56	1,56
Стоимость сена, руб./кг	0,10	0,10
Стоимость суточного рациона, руб./гол.	4,11	3,97
Затраты кормов за период опыта, корм. ед.	138,1	136,4
Стоимость рациона за опыт, руб.	226,1	218,4
Прирост живой массы за период опыта, кг	32,7	31,5
Стоимость 1 корм. ед., руб.	1,69	1,68
Стоимость кормов на 1 кг прироста, руб.	6,91	6,93
Себестоимость 1 кг прироста, руб.	10,63	10,66

В результате исследований установлено, что выпаивание молодняку крупного рогатого скота в возрасте 10–65 дней заменителя цельного молока привело к снижению стоимости рациона на 3,4 %. Однако в связи с несколько меньшей продуктивностью себестоимость получения прироста оказалась практически одинаковой.

Заключение. Разработана схема выпойки телят в возрасте 10–65 дней с продолжительностью молочного периода 65 дней.

Установлено влияние опытного заменителя цельного молока на продуктивность и физиологическое состояние племенного молодняка крупного рогатого скота. Выпойка ЗЦМ телятам в возрасте 10–65 дней, согласно разработанной схеме, оказывает положительное влияние на поедаемость кормов, способствует усилению окислительно-восстановительных процессов: повышается содержание гемоглобина в крови на 5,1 %, общего белка на – 3,2 %, глюкозы – на 4,2 % при снижении мочевины на 2,5 %. Среднесуточный прирост живой массы у телят, потреблявших ЗЦМ, несколько снизился, ($P > 0,05$), однако себестоимость его получения оказалась практически одинаковой. Использование в кормлении телят ЗЦМ позволяет снизить расход молока на выпойку телят и использовать его для производства продуктов питания для человека.

Литература

1. *Продуктивные и воспроизводительные показатели племенных бычков в зависимости от качества протеина в рационе* / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 299–304.

2. *Возможность* балансирования рационов молодняка крупного рогатого скота за счет местных масличных и бобовых культур / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 212–216.

3. *Природный* минеральный сорбент в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 221–225.

4. *Влияние* скармливания экструдированного обогатителя на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 290–294.

5. *Белково-витаминно-минеральные добавки* с использованием узколистного люпина и карбамида в рационах молодняка крупного рогатого скота / Т. Л. Сапсальёва [и др.] // Инновационные подходы к развитию устойчивых аграрно-пищевых систем : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2022. – С. 22–27.

6. *Богданович, Д. М.* Экспрессия рекомбинантного лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов в течение года / Д. М. Богданович, Е. В. Петрушко // Новости науки в АПК. – 2018. – Т. 1. – № 2 (11). – 168 с.

7. *Богданович, Д. М.* Микробиологические показатели и количество соматических клеток при хранении молока коз-продуцентов RHLF второго и третьего года лактации / Д. М. Богданович, А. И. Будевич, Е. В. Петрушко // Новые подходы к разработке технологий производства и переработки сельскохозяйственной продукции : материалы междунар. науч.-практ. конф. ; под общ. ред. И. Ф. Горлова. – 2018. – С. 135–140.

8. *Влияние* разных способов переработки зерна на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 226–230.

9. *Богданович, Д. М.* Эффективность включения в рацион бычков новой кормовой добавки / Д. М. Богданович, Н. П. Разумовский // Селекционно-генетические и технологические аспекты производства продуктов животноводства, актуальные вопросы безопасности жизнедеятельности и медицины : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 90-летию юбилею биотехнологического факультета. – 2019. – С. 75–80.

10. *Регулирование* обменной энергии в рационе за счет рапсового масла / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 271–276.

А. Н. Кот,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

В. Ф. Радчиков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор¹

И. С. Серяков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор²

В. И. Петров,

аспирант²

¹*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

²*Белорусская государственная сельскохозяйственная академия,
г. Горки, Республика Беларусь*

ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ КОБАЛЬТА НА ПИЩЕВАРЕНИЕ В РУБЦЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме. Изучено влияние уксуснокислого кобальта на показатели рубцового пищеварения и белкового обмена у бычков в возрасте 3–6 месяцев. Замена сернокислого кобальта на уксуснокислый кобальт в составе комбикормов не оказала значительного влияния на процессы рубцового пищеварения. Все показатели находились в пределах физиологических норм. У животных опытной группы отмечена тенденция снижения содержания аммиака в рубцовой жидкости на 4,2 %. Использование концентратов с добавлением органических соединений кобальта способствует повышению продуктивности животных и эффективности использования корма. Среднесуточный прирост живой массы у животных опытной группы увеличился на 2,7–4,5 %. Повышение продуктивности положительно повлияло на эффективность трансформации питательных веществ рациона в продукцию. Так, затраты корма на продукцию снизились на 2,8 %.

Ключевые слова: бычки, травяные корма, рационы, концентрированные корма, кобальт, гематологические показатели, рубцовое пищеварение.

Summary. The effect of cobalt acetic acid on the indicators of cicatricial digestion and protein metabolism in bulls aged 3–6 months was studied. The replacement of cobalt sulphate with cobalt acetic acid in the compound feed did not have a significant effect on the processes of scar digestion. All indicators were within the limits of physiological norms. The animals of the experimental group showed a tendency to decrease the ammonia content in the scar fluid by 4,2 %. The use of concentrates with the addition of organic cobalt compounds helps to increase the productivity of animals and the efficiency of feed use. The average daily increase in live weight

in animals of the experimental group increased by 2,7–4,5 %. The increase in productivity had a positive effect on the efficiency of the transformation of nutrients in the diet into products. Thus, feed costs for products decreased by 2,8 %.

Keywords: bulls, herbal feeds, rations, concentrated feeds, cobalt, hematological parameters, scar digestion.

Введение. Продуктивность сельскохозяйственных животных на 60–70 % зависит от качества и полноценности кормления. Чем выше продуктивность животных, тем более высокие требования предъявляются к качеству кормов и сбалансированности рационов по питательным веществам [1–3]. Поэтому обеспеченность сельскохозяйственных животных микроэлементами играет важную роль в повышении их продуктивности [4, 5].

На полноценность питания молодняка и взрослых животных, наряду с удовлетворением их потребности в основных питательных веществах, существенное влияние оказывает обеспеченность их минеральными веществами и витаминами. В связи с расширением и детализацией представлений о потребностях животных и о физиологической роли биогенных минеральных элементов эти вопросы приобрели огромное значение при организации их питания [6, 7].

Биологически активные вещества способствуют снижению потерь основных питательных веществ корма, связанных с процессом превращения их в вещества тела и продукцию. Причем с ростом продуктивности в организме животных происходит интенсификация обменных процессов, на которые существенное влияние оказывают микроэлементы, так как являются активными их участниками. В результате более эффективного использования питательных веществ рациона производство продукции животноводства на тех же кормах значительно увеличивается [8].

Функция минеральных веществ в организме разнообразна и важна в биохимии питания животных. Наряду со специфическими функциями большую роль минеральные вещества играют в утилизации белка и углеводов, в поддержании осмотического давления, буферной емкости жидкостей и тканей организма, нервного и мышечного возбуждения, регуляций каталитических процессов, проявлении иммунобиологической реактивности организма. Недостаток минеральных веществ в рационе отрицательно сказывается на степени минерализации скелета, здоровье и продолжительности жизни животного, воспроизводительных функциях.

На практике для восполнения недостатка минеральных веществ широко используются кормовые добавки, которые дополняют рацион животных по недостающим элементам питания и служат активаторами обменных процессов, оказывая комплексное положительное влияние на весь организм [9].

Наиболее часто используемым средством для профилактики и лечения гипомикроэлементозов являются микроэлементы в виде неорганических солей, которые, однако, оказались недостаточно эффективными. Это связано с малой биологической доступностью и усвоением микроэлементов из неорганических солей, поэтому организм животных даже при достаточном количестве их в рационе может испытывать дефицит по отдельным минеральным элементам [10].

Цель работы – изучить закономерности протекания пищеварительных процессов в рубце и обмена веществ в организме молодняка крупного рогатого скота при скармливании различных видов микроэлементов.

Материалы и методы. Исследования проведены в физиологическом корпусе РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».

Изучение протекания пищеварительных процессов в рубце молодняка крупного рогатого скота и обмена веществ в организме при скармливании различных видов микроэлементов на молодняке крупного рогатого скота в возрасте 3–6 месяцев. Для выполнения поставленной цели методом пар-аналогов были подобраны две группы клинически здоровых животных с учетом живой массы, возраста, упитанности и продуктивности.

Различия в кормлении заключались в том, что животным контрольной группы в составе концентрированных кормов скармливали соль сернокислого кобальта, а опытной – уксуснокислого. Соли кобальта вводились из расчета 1 мг на 1 кг концентратов.

Исследования проводились по следующей схеме (табл. 1).

Таблица 1. Схема исследований

Группа	Количество животных, голов	Продолжительность опыта, дней	Особенности кормления
I опытная	3	30	Основной рацион (ОР) – (травяные корма + комбикорм) + сернокислый кобальт (1 мг/кг комбикорма)
II опытная	3	30	ОР + уксуснокислый кобальт (1 мг/кг комбикорма)

В процессе исследований изучены показатели рубцового пищеварения, потребление кормов, гематологические показатели и продуктивность животных.

В опытах определялись следующие показатели:

- поедаемость кормов – путем проведения ежедекадных контрольных кормлений в течение двух смежных суток по разности массы заданных кормов и несъеденных остатков;
- интенсивность роста и уровень среднесуточных приростов животных – путем индивидуального взвешивания в начале и в конце опыта;

– эффективность использования кормов – путем расчета затрат энергии и протеина на прирост.

Для определения питательности рационов были отобраны и проанализированы корма, используемые для кормления подопытных животных. В лаборатории технологии кормопроизводства и биохимических анализов РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» определялся химический состав кормов, используемых в опытах по схеме общего зоотехнического анализа. Отбор проб проведен по ГОСТ 27262-87.

Содержание микро- и макроэлементов в рационе рассчитывалось на основе справочных данных.

Интенсивность процессов рубцового пищеварения у бычков изучена путем отбора проб жидкой части содержимого рубца через фистулу спустя 2–2,5 ч после утреннего кормления и отфильтрованного через четыре слоя марли.

В жидкой части рубцового содержимого определяли следующие показатели:

- концентрацию ионов водорода (pH) – по ГОСТ 26180-84, п. 3;
- общий азот – по ГОСТ 13496.4-93, п. 3 с применением автоматического анализатора UDK 132 и UDK 159 (VELP, Италия);
- концентрацию аммиака – микродиффузным методом в чашках Конвея;
- общее количество *летучих жирных кислот* (ЛЖК) – методом паровой дистилляции в аппарате Маркгама.

Кровь для анализа отбиралась в утренние часы, до начала кормления, стабилизировалась трилоном-Б (2,0–2,5 ед./мл). Биохимические показатели крови определяли с помощью биохимического анализатора «Accent 200», гематологические показатели – на анализаторе «URIT-3000 Vet Plus».

Статистическая обработка результатов анализа была проведена с учетом критерия достоверности по Стьюденту.

При оценке значений критерия достоверности исходили из объема анализируемого материала. Вероятность различий считалась достоверной при уровне значимости $P < 0,05$. В работе приняты следующие обозначения уровня значимости (P): $P < 0,05$ и $P < 0,01$.

Результаты исследований. Животные опытных групп получали рацион, состоящий из силоса кукурузного и комбикорма (табл. 2).

Таблица 2. Рацион подопытных животных

Показатель	Группа	
	I	II
<i>Вид корма</i>		
Силос кукурузный, кг	7,80	7,83
Комбикорм КР-3, кг	1,60	1,60

Показатель	Группа	
	I	II
<i>Содержание питательных веществ в 1 кг рациона</i>		
Кормовые единицы	4,20	4,21
Обменная энергия, МДж	41,8	41,9
Сухое вещество, г	4107	4117
Сырой протеин, г	450	451
Сырой жир, г	203	204
Сырая клетчатка, г	993	997
Безазотистые экстрактивные вещества (БЭВ), г	2223	2227
Кальций, г	30,3	30,4
Фосфор, г	18,7	18,8
Магний, г	9,10	9,13
Калий, г	47,7	47,8
Сера, г	7,85	7,87
Железо, мг	1007	1011
Медь, мг	128	128
Цинк, мг	193	194
Марганец, мг	337	33
Кобальт, мг	2,15	2,15
Йод, мг	1,81	1,81

Силос животные получали вволю. В структуре рациона на долю концентрированных кормов, приходилось 44 % по питательности. Травяные корма в структуре рациона занимали 56 %. Концентрированные корма животные съедали полностью. Потребление кукурузного силоса в обеих группах находилось на одном уровне.

В среднем в сутки подопытный молодняк получал 4,1 кг/голову сухого вещества рациона. Содержание обменной энергии в сухом веществе рациона опытных групп составило 10,2 МДж/кг. На долю сырого протеина в сухом веществе рационов приходилось 10,9 %. Количество клетчатки в сухом веществе составило 24,2 %.

Как показали исследования, рубцовое пищеварение у животных опытных групп несколько отличалось (табл. 3).

Таблица 3. Параметры рубцового пищеварения

Показатель	Группа	
	I	II
pH	6,5 ± 0,17	6,68 ± 0,10
ЛЖК, ммоль/100 мл	10,17 ± 0,26	10,47 ± 0,35
Азот общий, мг/100 мл	119 ± 2,52	119,3 ± 3,48
Аммиак, мг/100 мл	17,23 ± 0,16	16,52 ± 0,59

В рубце животных, потреблявших комбикорм с включением соли кобальта, содержание аммиака снизилось на 4,2 %. В то же время в опытной группе уровень летучих жирных кислот увеличился на 3,0 %. Снижение уровня аммиака может свидетельствовать о том, что интенсивность синтеза микробного белка возросла.

Однако, несмотря на некоторые изменения в протекании процессов пищеварения в рубце животных, все показатели находились в пределах нормы.

Как показали исследования, гематологические показатели находились в пределах физиологических норм (табл. 4).

Таблица 4. Гематологические показатели подопытных животных

Показатель	Группа	
	I	II
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,2 \pm 0,16$	$7,37 \pm 0,29$
Гемоглобин, г/л	$108,67 \pm 3,18$	$111 \pm 3,22$
Общий белок, г/л	$73,4 \pm 2,14$	$74,2 \pm 2,38$
Глюкоза, ммоль/л	$2,82 \pm 0,11$	$2,77 \pm 0,04$
Мочевина, ммоль/л	$4,14 \pm 0,23$	$4,06 \pm 0,16$
Кальций, ммоль/л	$2,9 \pm 0,11$	$2,94 \pm 0,05$
Фосфор, ммоль/л	$1,59 \pm 0,05$	$1,61 \pm 0,06$

Скармливание комбикорма, с включением соли кобальта, не оказало значительного влияния на состав крови животных. У бычков опытной группы отмечено повышение содержания эритроцитов на 2,4 %, гемоглобина – на 2,1, общего белка – на 1,1, кальция и фосфора – на 1,4 и 1,3 % соответственно. В то же время уровень глюкозы снизился на 1,8 %, мочевины – на 1,9 %. Однако отмеченные различия недостоверны.

Скармливание солей кобальта в составе рациона бычков в возрасте 5–6 месяцев позволило повысить энергию роста и эффективность использования питательных веществ рациона (табл. 5).

Таблица 5. Динамика живой массы и эффективность использования кормов подопытным молодняком

Показатель	Группа	
	I	II
Живая масса:		
в начале опыта, кг	$144 \pm 1,7$	$143,7 \pm 2,9$
в конце опыта, кг	$166 \pm 2,3$	$166,3 \pm 3,5$
Валовой прирост, кг	$22 \pm 0,6$	$22,7 \pm 0,9$
Среднесуточный прирост, г	$733 \pm 19,3$	$756 \pm 29,4$
в % к контролю	100	103,1
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	5,73	5,57
в % к контролю	100	97,2

Более высокие приросты отмечены во II опытной группе – 756 г в сутки, что на 3,1 % выше, чем в контрольной. Затраты кормов в этой группе оказались ниже, чем в первой на 2,8 % и составили 5,57 корм. ед., в то время как в контрольной группе этот показатель был равен 5,73 корм. ед.

Заключение. Замена серноокислого кобальта на уксуснокислый кобальт в составе комбикормов не оказала значительного влияния на процессы рубцового пищеварения. Все показатели находились в пределах физиологических норм. У животных опытной группы отмечена тенденция снижения содержания аммиака в рубцовой жидкости на 4,2 %.

Использование концентратов с добавлением органических соединений кобальта способствует повышению продуктивности животных и эффективности использования корма. Среднесуточный прирост живой массы у животных опытной группы увеличился на 2,7–4,5 %.

Повышение продуктивности положительно повлияло на эффективность трансформации питательных веществ рациона в продукцию. Так, затраты корма на продукцию снизились на 2,8 %.

Литература

1. *Влияние разных способов переработки зерна на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота* / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 226–230.
2. *Эффективность* скармливания молодняку крупного рогатого скота новой энергетической добавки / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 267–271.
3. *Регулирование обменной энергии в рационе за счет рапсового масла* / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 271–276.
4. *Возможность* балансирования рационов молодняка крупного рогатого скота за счет местных масличных и бобовых культур / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 212–216.
5. *Продуктивность* молодняка крупного рогатого скота в зависимости от содержания в рационе расщепляемого протеина / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 262–267.
6. *Природный* минеральный сорбент в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 221–225.
7. *Влияние* скармливания экструдированного обогатителя на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 290–294.

8. *Природная кормовая добавка в кормлении молодняка крупного рогатого скота* / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – 253–257.

9. *Кормовые добавки в рационах молодняка крупного рогатого скота* / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 258–262.

10. *Белково-витаминно-минеральные добавки с использованием узколиственного люпина и карбамида в рационах молодняка крупного рогатого скота* / Т. Л. Сапсалёва [и др.] // Инновационные подходы к развитию устойчивых аграрно-пищевых систем : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2022. – С. 22–27.

УДК 636.084/087; 636.22/.28.033; 636.22/.28.034

Г. В. Бесараб,

научный сотрудник¹

В. Ф. Радчиков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор¹

В. П. Цай,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

Т. Л. Сапсалёва,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

А. М. Глинкова,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент¹

В. А. Люндышев,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент²

¹*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный аграрный технический университет,
г. Минск, Республика Беларусь*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ БЫЧКОВ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ РАЗНЫХ ДОЗ КАРБАМИДНОГО КОНЦЕНТРАТА

Резюме. В ходе проведенных исследований установлено, что включение в рацион молодняка крупного рогатого скота карбамидного концентрата способствует повышению количества эритроцитов в крови животных на 6,18–7,77, гемоглобина – на 4,8–6,2, лейко-

цитов – на 10,3–13,3 % в сравнении с контролем. Использование в кормлении молодняка карбамидного концентрата в количестве 10, 20 и 25 % в составе комбикорма способствовало повышению валового прироста на 4,5–7,9 кг, среднесуточного – на 6,8–11,9 % по сравнению с животными контрольной группы. Увеличение дозы до 30 % привело к снижению продуктивности на 3,9 %.

Ключевые слова: молодняк крупного рогатого скота, карбамидный концентрат, рационы, продуктивность, эффективность.

Summary. In the course of the conducted studies, it was found that the inclusion of carbamide concentrate in the diet of young cattle contributes to an increase in the number of erythrocytes in the blood of animals by 6,18–7,77, hemoglobin – by 4,8–6,2, leukocytes – by 10,3–13,3 % in comparison with the control. The use of carbamide concentrate in the amount of 10, 20 and 25 % in the feed in the feeding of young animals contributed to an increase in the gross increase by 4,5–7,9 kg, the average daily increase by 6,8–11,9 % compared with the animals of the control group. An increase in the dose to 30 % led to a decrease in productivity by 3,9 %.

Keywords: young cattle, urea concentrate, rations, productivity, efficiency.

Введение. В системе полноценного кормления сельскохозяйственных животных существенное значение имеет обеспеченность их протеином. В последние годы в нашей стране и за рубежом особо пристальное внимание уделялось вопросам протеинового питания жвачных животных. Это связано с тем, что дефицит кормового белка остается еще одной из основных проблем в кормлении сельскохозяйственных животных. При таких условиях наряду с увеличением производства высококачественных белковых кормов не менее важное значение имеет разработка способов повышения эффективности их использования [1, 2].

Многими исследованиями по изучению возможности увеличения производства и рациональному использованию белка установлен ряд основных направлений, по которым наиболее эффективно можно решить проблему кормового протеина, в их числе находится широкое использование небелковых азотистых веществ в кормлении жвачных животных.

Исследования последних лет убедительно показали, что решение вопросов рационального питания жвачных животных невозможно без достаточного знания процессов распада кормового протеина и синтеза микробного белка в рубце. Особое значение этому придается при разработке научно обоснованного кормления животных. Если потребность низкопродуктивных животных в белке может быть удовлетворена за счет синтеза микробного белка в рубце и качественный состав протеина корма не играет особой роли, то потребность высокопродуктивных животных удовлетворяется как за счет микробного белка, так и с помощью высококачественного белка корма, избежавшего распада в рубце. В связи с этим выяснение условий, способствующих интенсивному синтезу микробного белка в рубце за счет простых азотистых соединений, а также снижению распада высококачественных белков корма и увеличению поступления

их в кишечник, является важной задачей в разработке мероприятий по повышению эффективности использования корма и продуктивности животного [3–5].

Эффективность и целесообразность использования синтетических азотистых веществ в кормлении жвачных животных не вызывает сомнения. Совершенно определенно установлено, что в их рационе до 35 % переваримого протеина может быть заменено или восполнено азотсодержащими продуктами небелкового характера.

Включение небелковых азотистых веществ в состав комбикормов и амидных добавок позволяет высвободить значительное количество высокопротеиновых растительных кормов (жмыхов, шротов) для кормления моногастричных животных [6, 7].

Интерес к этой проблеме с каждым годом повышается, что объясняется постоянно ведущимся интенсивным поиском рациональных и эффективных способов обогащения жвачных животных небелковыми азотсодержащими веществами, позволяющим создать оптимальные условия для биосинтетических процессов в рубце [8].

В настоящее время целесообразность использования синтетических азотистых веществ в кормлении жвачных животных не вызывает сомнения. Совершенно определенно установлено, что в их рационе до 35 % переваримого протеина может быть заменено или восполнено азотсодержащими продуктами небелкового характера [9].

Использование небелковых азотистых веществ в составе комбикормов и амидных добавок позволяет высвободить значительное количество высокопротеиновых растительных кормов (жмыхов, шротов) для кормления моногастричных животных [10].

Цель исследований – изучить эффективность скормливания молодняку крупного рогатого скота синтетических азотистых веществ.

Материалы и методы. Исследования проведены на пяти группах молодняку крупного рогатого скота, подобранных по принципу пар аналогов с учетом возраста, живой массы, по 10 голов в каждой (см. табл. 1).

Различия в кормлении заключались в том, что в состав комбикорма животных опытных групп включали 10, 20, 25 и 30 % карбамидного концентрата.

В процессе исследований изучались следующие показатели: химический состав и поедаемость кормов, морфо-биохимический состав крови, интенсивность роста животных.

Цифровой материал проведенных исследований обработан методом вариационной статистики с учетом критерия достоверности по Стьюденту с использованием программного пакета Microsoft Excel.

Таблица 1. Схема научно-хозяйственного опыта

Группа	Количество животных в группе, голов	Продолжительность исследований, дней	Условия кормления
I контрольная	10	90	Основной рацион (ОР): сенаж, силос, комбикорм КР-3
II опытная	10	90	ОР + комбикорм с включением карбамидного концентрата 10 %
III опытная	10	90	ОР + комбикорм с включением карбамидного концентрата 20 %
IV опытная	10	90	ОР + комбикорм с включением карбамидного концентрата 25 %
V опытная	10	90	ОР + комбикорм с включением карбамидного концентрата 30 %

Результаты исследований. Для проведения исследований разработаны комбикорма и рационы для контрольных и опытных животных. Комбикорм вырабатывали по пять партий по мере поедания их животными. В опытные комбикорма включали карбамид в виде карбамидного концентрата (70 % зерна ржи, 30 % карбамида), который характеризовался хорошей технологичностью в процессе выработки. Зерновая группа комбикормов включала овес, пшеницу, ячмень, рожь и белковый компонент – жмых рапсовый, в опытных группах – карбамид, для которого характерно высокое содержание сырого протеина. Минеральная часть представлена премиксом ПКР-2, мелом и кормовой солью.

Рационы подопытных животных были одинаковыми по питательности согласно нормам и составлялись на основании химического состава кормов с уточнением их питательности, и скармливались в два приема: утром и вечером. Общий уровень кормления бычков соответствовал их потребности в питательных веществах.

Как показали результаты исследований, комбикорма и смесь концентрированных кормов с карбамидным концентратом поедались животными без остатков.

В результате анализа гематологических показателей установлено, что с вводом карбамида в крови молодняка опытных групп уровень эритроцитов повысился на 6,18–7,77 % (табл. 2).

Таблица 2. Состав крови подопытного молодняка

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,66 \pm 0,08$	$6,1 \pm 0,01$	$6,02 \pm 0,06$	$6,05 \pm 0,02$	$6,01 \pm 0,08$
%	100	107,77	106,36	106,89	106,18

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Гемоглобин, г/л	80,53 ± 0,76	85,53 ± 0,79	85,17 ± 0,79	83,8 ± 2,070	81,2 ± 1,330
%	100,0	106,2	105,8	104,1	100,8
Гематокрит, %	28,23 ± 1,22	28,6 ± 0,350	29,73 ± 0,140	29,83 ± 0,640	28 ± 0,810
%	100,0	101,3	105,3	105,7	99,2
Лейкоциты, тыс./мм ³	7,08 ± 0,1	8,02 ± 0,06	8,57 ± 0,49	7,87 ± 0,09	7,81 ± 0,1
%	100,0	113,3	121,0	111,2	110,3
Лимфоциты, %	34,85 ± 0,69	36,95 ± 0,390	38,07 ± 0,82	36,17 ± 0,270	37,98 ± 0,04
%	100,0	106,0	109,2	103,8	109,0
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	388,33 ± 6,96	404,33 ± 4,0550	471,667 ± 8,951	401 ± 7,5720	404 ± 4,6190
%	100,0	104,1	121,5	103,3	104,0

Содержание гемоглобина в крови животных I–IV групп оказалось выше на 4,8–6,2 %. Отмечено повышение содержания лейкоцитов в крови животных всех опытных групп на 10,3–13,3 %, тромбоцитов – на 4,1–21,5 %.

Обмен протеина у опытных животных в связи с вводом карбамидного концентрата не имел отрицательных изменений (табл. 3).

Таблица 3. Морфо-биохимические показатели крови подопытного молодняка крупного рогатого скота

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Общий белок, г/л	74,73 ± 3,87	81,5 ± 0,870	80,8 ± 0,530	81,33 ± 0,880	79,6 ± 0,310
%	100	109,06	108,12	108,83	106,52
Альбумины, г/л	31,72 ± 0,59	33,7 ± 0,15	34,82 ± 0,15	33,45 ± 0,280	31,53 ± 0,290
%	100,0	106,2	109,8	105,5	99,4
Глобулины, г/л	45,63 ± 0,2	46,63 ± 0,2	47,56 ± 0,29	45,47 ± 0,260	44,53 ± 0,29
%	100,0	102,2	104,2	99,6	97,6
Глюкоза, ммоль/л	1,85 ± 0,03	1,96 ± 0,02	2,16 ± 0,03	2,31 ± 0,08	2,57 ± 0,17
%	100,0	105,9	116,8	124,9	138,9
Мочевина, ммоль/л	4,1 ± 0,04	4,29 ± 0,02	4,24 ± 0,180	4,54 ± 0,08	4,78 ± 0,09
%	100,0	104,6	103,4	110,7	116,6

Интенсивность белкового обмена не претерпела ингибирующих изменений, что подтвердилось стабильным уровнем общего белка в крови с активизацией синтеза альбуминовой фракции.

Количество мочевины – один из лидирующих индикаторов протеинового обмена при замене растительного протеина на карбамид. Установле-

но увеличение уровня мочевины в крови животных опытных группы на 4,6–16,6 %.

Важным показателем кормовой ценности рационов и их компонентов для молодняка крупного рогатого скота является продуктивность. В таблице 4 представлены показатели продуктивности по группам животных за опыт.

Таблица 4. Продуктивность подопытного молодняка

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Живая масса, кг:					
в начале опыта	290,7 ± 0,7	298,3 ± 0,5	301,4 ± 0,9	288,4 ± 1,4	295,6 ± 2,70
в конце опыта	357,3 ± 1,1	372,8 ± 1,5	372,5 ± 1	361,4 ± 0,9	359,6 ± 3,30
Валовой прирост, кг	66,6 ± 0,9	74,5 ± 1,4	71,1 ± 1,3	73 ± 1	64 ± 1,50
Среднесуточный прирост, г	740 ± 10,1	827,8 ± 15,6	790,1 ± 14,3	811 ± 11,1	711,1 ± 16,4
в % к контролю	100	111,9	106,8	109,6	96,1

Исследованиями установлено, что валовой прирост живой массы одной головы за 90 дней опыта составил во II опытной группе 74,5 кг, в III – 71,1 кг, в IV – 73 кг, или на 7,9, 4,5 и 6,5 кг больше, чем в контроле. В V группе отмечено снижение валового прироста по сравнению с контрольной на 3,9 % ($P \geq 0,05$).

Использование в кормлении молодняка опытных групп карбамидного концентрата в количестве 10, 20 и 25 % в составе комбикорма способствовало повышению среднесуточного прироста на 11,9, 6,8 и 9,6 % по сравнению с животными контрольной группы. Скармливание животным комбикорма с включением 30 % карбамидного концентрата привело к снижению данного показателя на 3,9 %.

Таким образом, результаты исследований гематологических показателей свидетельствуют о высокой интенсивности обменных процессов у животных опытных групп. Использование в кормлении молодняка крупного рогатого скота карбамидного концентрата в количестве 10, 20 и 25 % способствовало повышению валового прироста на 4,5–7,9 кг, среднесуточных приростов – на 50–87 г по сравнению с животными контрольной группы.

Заключение. В ходе проведенных исследований установлено, что включение в рацион молодняка крупного рогатого скота карбамидного концентрата способствует повышению количества эритроцитов в крови животных на 6,18–7,77, гемоглобина – на 4,8–6,2, лейкоцитов – на 10,3–13,3 % в сравнении с контролем. Использование карбамидного концентрата в количестве 10, 20 и 25 % в составе комбикорма способствовало повышению

валового прироста на 4,5–7,9 кг, среднесуточного – на 6,8–11,9 % по сравнению с животными контрольной группы. Увеличение дозы до 30 % привело к снижению продуктивности на 3,9 %.

Литература

1. *Возможность* балансирования рационов молодняка крупного рогатого скота за счет местных масличных и бобовых культур / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 212–216.
2. *Природный* минеральный сорбент в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 221–225.
3. *Белково-витаминно-минеральные добавки* с использованием узколиственного люпина и карбамида в рационах молодняка крупного рогатого скота / Т. Л. Сапсальева [и др.] // Инновационные подходы к развитию устойчивых аграрно-пищевых систем : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2022. – С. 22–27.
4. *Природная* кормовая добавка в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 253–257.
5. *Эффективность* скармливания молодняку крупного рогатого скота новой энергетической добавки / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 267–271.
6. *Кормовые добавки* в рационах молодняка крупного рогатого скота / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 258–262.
7. *Влияние* разных способов переработки зерна на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 226–230.
8. *Разумовский, Н. П.* Эффективность использования в кормлении молодняка крупного рогатого скота белковых добавок на основе зерна рапса, люпина, вики / Н. П. Разумовский, Д. М. Богданович // Совершенствование региональных породных ресурсов мясного скота и повышение их генетического потенциала в целях наращивания производства высококачественной отечественной говядины : материалы Междунар. науч. конф. – Элиста, 2020. – С. 79–83.
9. *Продуктивность* молодняка крупного рогатого скота в зависимости от содержания в рационе расщепляемого протеина / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 262–267.
10. *Продуктивные* и воспроизводительные показатели племенных бычков в зависимости от качества протеина в рационе / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 299–304.

В. Ф. Радчиков,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Т. Л. Сапсалёва,

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

И. В. Богданович,

аспирант

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

ПЕРЕВАРИМОСТЬ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАЦИОНА ТЕЛЯТАМИ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ ЦЕЛЬНОГО ЗЕРНА КУКУРУЗЫ

Резюме. В данной статье приведены материалы по изучению эффективности включения цельного зерна кукурузы в количестве 30 и 40 % от массы комбикорма молодняку крупного рогатого скота в возрасте 66–115 дней, оказывающего положительное влияние на потребление кормов, интенсивность роста животных, снижение затрат кормов и себестоимости продукции. Это дает возможность повысить продуктивность животных, выразившуюся в увеличении среднесуточных приростов живой массы на 3,5 и 4,8 % (774 и 784 г), при наиболее эффективном использовании кормов, затраты которых уменьшены на 1,1 и 1,8 % по отношению к контролю, что привело к снижению себестоимости прироста на 4,4 и 5,2 %.

Ключевые слова: молодняк крупного рогатого скота, цельное зерно, рационы, продуктивность, эффективность.

Summary. This article presents materials on the study of the effectiveness of the inclusion of whole corn grains in the amount of 30 and 40 % of the weight of mixed feed for young cattle aged 66–115 days, which has a positive effect on feed consumption, the intensity of animal growth, while reducing feed costs and production costs. It makes it possible to increase the productivity of animals, expressed in an increase in average daily live weight gains by 3,5 and 4,8 % (774 and 784 g), with the most efficient use of feed, the costs of which are reduced by 1,1 and 1,8 % relative to control, which led to a decrease in the cost of growth by 4,4 and 5,2 percent.

Keywords: young cattle, whole grain, diets, productivity, efficiency.

Введение. Важное значение в повышении продуктивности животных, эффективности использования кормов и рентабельности производства продукции играет кормовой фактор. Чем раньше начнет развиваться рубец, тем выше продуктивность взрослого животного. Поэтому необходимо добиться быстрого развития рубца с целенаправленной стимуляцией роста слизистой и увеличения площади всасывающей поверхности («разгона рубца») [1–3].

Организация кормления телят, в первую очередь, до достижения ими возраста 12 недель (3 месяцев), оказывает существенное влияние на размер, развитие и становление оптимальной микрофлоры рубца. Важно не только увеличить объем рубца, но, в первую очередь, необходимо оптимальным образом развить его слизистую оболочку [4, 5].

Ранний ввод концентрированных кормов – залог раннего развития рубца. Крахмал при метаболизме в рубце распадается до летучих жирных кислот (уксусной, пропионовой, масляной), которые помогают ускоренному развитию папилл – ворсинок стенки рубца [6, 7].

Хорошо функционирующий рубец может также служить важной линией защиты против кишечных болезнетворных организмов, вызывающих понос у телят. По мере взросления теленка возрастающее потребление в концентратах приводит к лучшему обмену веществ и лучшему усвоению питательных веществ [8–10].

Цель работы – изучить эффективность использования зерна кукурузы в цельном виде в кормлении телят и определить оптимальные нормы включения цельного зерна кукурузы в рационы телят.

Материалы и методы. Научно-хозяйственный опыт проведен на четырех группах телят, по 12 голов в каждой, с постановочной живой массой 66,3–69,5 кг в возрасте 66–115 дней в течение 50 дней (табл. 1). Формирование групп животных осуществляли по принципу пар-аналогов.

Различия в кормлении подопытного молодняка заключались в том, что животные контрольной группы получали рацион, принятый в хозяйстве, а их аналогам опытных групп скармливали комбикорма с различным вводом цельного зерна кукурузы: 30, 40, 50 % по массе.

Таблица 1. Схема опыта

Группа	Количество животных, голов	Живая масса на начало опыта, кг	Особенности кормления
I контрольная	12	67,3	Основной рацион (ОР) – цельное молоко, сено, силосно-сенажная смесь + комбикорм КР-1, КР-2
II опытная	12	69,1	ОР + смесь из 70 % комбикорма КР-1, КР-2 и 30% цельного зерна кукурузы
III опытная	12	69,5	ОР + смесь из 60 % комбикорма КР-1, КР-2 и 40 % цельного зерна кукурузы
IV опытная	12	66,3	ОР + смесь из 50 % комбикорма КР-1, КР-2 и 50 % цельного зерна кукурузы

В ходе исследований изучены следующие показатели: химический состав, питательность и поедаемость кормов, морфо-биохимический состав крови, интенсивность роста животных, экономическая эффективность выращивания телят.

Полученный цифровой материал обработан методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием пакета статистики Microsoft Excel. Статистическая обработка результатов анализа проведена по методу Стьюдента.

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что введение цельного зерна кукурузы в количестве 30, 40 и 50 % по массе в состав комбикорма способствовало повышению его питательности на 5,3–8,8 %, энергетической ценности на 3,8–6,3 %.

При замене зерновой части комбикорма цельным зерном кукурузы в количестве от 30 до 50 % наблюдается снижение содержания протеина в опытных комбикормах, в связи с меньшим его содержанием в зерне кукурузы по отношению к основному комбикорму. Установлено, что в период проведения исследования поедаемость кормов телятами между группами оказалась практически одинаковой (табл. 2).

Таблица 2. Среднесуточный рацион телят (по фактически съеденным кормам)

Показатель	Группа							
	I		II		III		IV	
	кг	%	кг	%	кг	%	кг	%
<i>Вид корма</i>								
Молоко цельное	0,6	5,5	0,6	5,4	0,6	5,4	0,6	5,33
Комбикорм КР-1	0,25	9,2	0,25	9,3	0,25	9,2	0,25	9,47
Комбикорм КР-2	1,70	59,3	1,70	61,1	1,70	61,6	1,70	62,43
Сено злаковое	0,79	11,0	0,74	10,2	0,69	9,5	0,68	9,17
Силосно-сенажная смесь	1,05	15,0	1,00	14,1	1,02	14,3	0,98	13,61
<i>Содержание питательных веществ в 1 кг рациона</i>								
Кормовые единицы	3,27	3,34	3,36	3,38	3,27	3,34	3,36	3,38
Обменная энергия, МДж	31,78	31,96	31,96	31,98	31,78	31,96	31,96	31,98
Сухое вещество, кг	2,9	2,8	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,8
Сырой протеин, г	434,2	392,7	377,1	363,1	434,2	392,7	377,1	363,1
Переваримый протеин, г	310,8	369,3	254,9	240,9	310,8	369,3	254,9	240,9
Сырой жир, г	98,7	104,4	106,1	107,9	98,7	104,4	106,1	107,9
Сырая клетчатка, г	396,4	360,2	343,0	330,6	396,4	360,2	343,0	330,6
Крахмал, г	750,6	856,8	891,9	927,2	750,6	856,8	891,9	927,2
Сахар, г	120,9	126,5	128,1	129,7	120,9	126,5	128,1	129,7
Кальций, г	18,7	15,7	14,7	13,6	18,7	15,7	14,7	13,6
Фосфор, г	9,0	10,1	10,4	10,8	9,0	10,1	10,4	10,8
Магний, г	5,3	4,9	4,8	4,7	5,3	4,9	4,8	4,7
Калий, г	39,6	37,1	35,9	35,0	39,6	37,1	35,9	35,0
Сера, г	5,2	4,8	4,6	4,5	5,2	4,8	4,6	4,5
Железо, мг	334,1	324,4	317,0	313,7	334,1	324,4	317,0	313,7
Медь, мг	18,2	16,1	15,4	14,7	18,2	16,1	15,4	14,7
Цинк, мг	114,1	104,6	101,1	97,8	114,1	104,6	101,1	97,8
Марганец, мг	189,9	168,6	159,2	151,8	189,9	168,6	159,2	151,8

Показатель	Группа							
	I		II		III		IV	
	кг	%	кг	%	кг	%	кг	%
Кобальт, мг	1,62	1,34	1,22	1,14	1,62	1,34	1,22	1,14
Йод, мг	1,1	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,0
Витамин Е, мг	157,9	139,5	133,8	126,9	157,9	139,5	133,8	126,9

В рационах подопытного молодняка содержалось 3,27–3,38 корм. ед., концентрация в сухом веществе находилась на уровне 1,13–1,21 корм. ед. Содержание обменной энергии в сухом веществе рациона составила 11,0–11,4 МДж. Концентрация сырого протеина в рационе животных контрольной группы находилась на уровне 15,0 %, что выше опытных значений на 13,0–14,0 %. Потребление сырого жира на сухое вещество рациона находилось на уровне 3,4 % в контрольном варианте и 3,7–3,9 % в опытных, сырой клетчатки в контрольной группе составило 13,7 %, в опытных – 11,8–12,9 %.

Морфологические и биохимические показатели крови имеют важное значение при оценке продуктивных качеств животных. Скармливание комбикормов с включением 30, 40 и 50 % цельного зерна кукурузы молодняку крупного рогатого скота в возрасте 66–115 дней не оказало существенного влияния на изучаемые показатели крови животных (табл. 3).

Таблица 3. Гематологические показатели

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,38 \pm 0,34$	$5,24 \pm 0,28$	$4,71 \pm 0,24$	$4,62 \pm 0,17$
Гемоглобин, г/л	$106,3 \pm 1,76$	$104,3 \pm 4,18$	$97,67 \pm 3,48$	$102,7 \pm 3,93$
Лейкоциты, $10^9/л$	$10,6 \pm 0,38$	$12,3 \pm 0,78$	$11,97 \pm 2,22$	$12,17 \pm 1,13$
Общий белок, г/л	$71,8 \pm 1,9$	$70,6 \pm 3,0$	$68,4 \pm 3,0$	$75,7 \pm 2,7$
Глюкоза, ммоль/л	$3,0 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,4$	$3,1 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,0$
Мочевина, ммоль/л	$2,44 \pm 0,38$	$3,67 \pm 0,33$	$2,05 \pm 0,32$	$3,95 \pm 1,36$
Тромбоциты, $10^9/л$	$365,7 \pm 24,8$	$366,0 \pm 15,5$	$366,3 \pm 3,8$	$365,0 \pm 21,2$
Гематокрит, %	$20,5 \pm 1,7$	$20,2 \pm 1,5$	$17,5 \pm 1,0$	$16,9 \pm 0,9$
Кальций, ммоль/л	$2,34 \pm 0,01$	$2,57 \pm 0,10$	$2,27 \pm 0,01$	$2,43 \pm 0,09$
Фосфор, ммоль/л	$1,98 \pm 0,03$	$1,80 \pm 0,06$	$1,77 \pm 0,03$	$1,94 \pm 0,04$

На основании результатов исследований установлено, что животные были клинически здоровыми, все гематологические показатели находились в пределах физиологических норм. Это свидетельствует о том, что обменные процессы в организме подопытного молодняка протекали на высоком уровне и не имели существенных различий.

По динамике живой массы и среднесуточным приростам можно судить о продуктивном действии исследуемых кормов. Основными показателями выращивания животных являются живая масса и скорость их роста (табл. 4).

Таблица 4. Изменение живой массы и среднесуточные приросты молодняка

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса, кг:				
в начале опыта	67,3 ± 1,8	69,1 ± 1,2	69,5 ± 1,8	66,3 ± 2,0
в конце опыта	104,8 ± 3,1	107,8 ± 3,1	108,7 ± 2,4	102,9 ± 2,2
Валовой прирост, кг	37,4 ± 2,2	38,7 ± 2,9	39,2 ± 1,8	36,6 ± 1,9
Среднесуточный прирост, г	748 ± 44,6	774 ± 58,8	784 ± 35,0	732 ± 38,0
в % к контролю	100,0	+3,5	+4,8	-2,1

Потребление животными цельного зерна от общей массы комбикорма в размере 30 и 40 % позволило получить среднесуточный прирост животных на уровне 774 и 784 г в сутки, что на 3,5 и 4,8 % выше контроля. Увеличение прироста животных II и III опытных групп за период опыта позволило незначительно снизить затраты кормов в сравнении с контрольными аналогами, при этом у телят IV опытной группы данный показатель увеличился на 6,5 %, что связано со снижением прироста.

Важным фактором, обуславливающим необходимость включения в рацион животных новых кормов и кормовых добавок, является экономическая эффективность их применения. Данный показатель напрямую зависит от себестоимости получаемой продукции. Чем ниже себестоимость, тем эффективнее производство и конкурентоспособность полученной продукции.

С учетом фактического расхода кормов и их стоимости, полученного прироста живой массы подопытных животных рассчитана экономическая эффективность использования цельного зерна различных дозировок кукурузы в количестве 30, 40 и 50 % в составе комбикормов КР-2 взамен зерновой части (табл. 5).

Таблица 5. Экономическая эффективность скармливания телятам комбикормов с разным вводом цельного зерна

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Стоимость цельного зерна кукурузы, руб./кг	—	0,5	0,5	0,5
Стоимость комбикорма, руб./кг	0,49	0,49	0,49	0,50
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	4,37	4,32	4,29	4,62
Затраты кормов за период опыта, корм. ед.	163,5	167,0	168,0	169,0
Стоимость суточного рациона, руб./гол.	1,87	1,85	1,86	1,85

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Прирост живой массы за период опыта, кг	37,4	38,7	39,2	36,6
Стоимость 1 корм. ед., руб.	0,57	0,55	0,55	0,55
Стоимость кормов на 1 кг прироста, руб.	2,50	2,39	2,37	2,53
Себестоимость 1 кг прироста, руб.	3,85	3,68	3,65	3,89

Исследованиями установлено, что скармливание молодняку крупного рогатого скота в возрасте 66–115 дней комбикормов с вводом 30 и 40 % цельного зерна кукурузы по массе позволило снизить стоимость рациона за сутки на 1,07 и 0,53 %, при увеличении прироста на 3,5 и 4,8 %, что привело к снижению себестоимости прироста на 4,4 и 5,2 %.

Исходя из вышесказанного, наиболее эффективным при выращивании телят оказалось скармливание рационов, в состав которых включены комбикорма КР-2 с нормой ввода цельного зерна кукурузы 30 и 40 %.

Закключение. Включение в рацион молодняку крупного рогатого скота в возрасте 66–115 дней комбикорма с вводом цельного зерна кукурузы в количестве 30 и 40 % дает возможность повысить продуктивность животных, выразившуюся в увеличении среднесуточных приростов живой массы на 3,5 и 4,8 % (774 и 784 г), при наиболее эффективном использовании кормов, затраты которых снижены на 1,1 и 1,8 % по отношению к контролю, что привело к снижению себестоимости прироста на 4,4 и 5,2 %.

Литература

1. *Возможность* балансирования рационов молодняку крупного рогатого скота за счет местных масличных и бобовых культур / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 212–216.
2. *Белково-витаминно-минеральные добавки* с использованием узколиственного люпина и карбамида в рационах молодняку крупного рогатого скота / Т. Л. Сапсальева [и др.] // Инновационные подходы к развитию устойчивых аграрно-пищевых систем : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград. – 2022. – С. 22–27.
3. *Регулирование* обменной энергии в рационе за счет рапсового масла / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 271–276.
4. *Природная* кормовая добавка в кормлении молодняку крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 253–257.
5. *Эффективность* скармливания молодняку крупного рогатого скота новой энергетической добавки / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 267–271.

6. *Природный минеральный сорбент в кормлении молодняка крупного рогатого скота* / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 221–225.

7. *Кормовые добавки в рационах молодняка крупного рогатого скота* / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 258–262.

8. *Влияние биологически активных добавок на регуляцию рубцового пищеварения и микробиоценоз лактирующих коров* / В. П. Короткий [и др.] // Инновационный путь развития отраслей животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – Жодино, 2022. – С. 102–105.

9. *Влияние разных способов переработки зерна на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота* / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 226–230.

10. *Продуктивность молодняка крупного рогатого скота в зависимости от содержания в рационе расщепляемого протеина* / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф. – 2022. – С. 262–267.

УДК 616.151: 636.2.086.783

С. С. Мудрук,

аспирант

Л. Ю. Карпенко,

доктор биологических наук, профессор

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ФУКУСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ БЕЛОГО МОРЯ НА НЕКОТОРЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОРОВ

Резюме. Основной целью продуктивного животноводства является получение качественной продукции, что имеет прямую зависимость от состояния здоровья и условий содержания и кормления продуктивных животных. Кормовые добавки, в свою очередь, являются необходимым элементом в методах балансирования и оптимизации ежедневных рационов сельскохозяйственных животных. Учитывая важность этой проблемы, **целью** данной работы стало определение эффективности кормовой добавки на основе фукусных водорослей на состояние исследуемых животных путем внедрения данной добавки в ежедневный рацион. Исследование проводилось в молочном хозяйстве Ленинградской области, где изучался рацион дойных коров и их гематологический статус.

Исходя из полученных данных был сделан вывод, что кормовая добавка на основе фукусных водорослей Белого моря оказывает влияние на организм дойных коров. С точки зре-

ния клинического анализа крови это наиболее заметно по показателям клинического анализа крови, характеризующим состояние эритронов, в частности по уровню эритроцитов.

Ключевые слова: биохимия, кормовая добавка, крупный рогатый скот, рацион, гематология, анемия, эритроциты.

Summary. The main goal of productive animal husbandry is to obtain quality products, which has a direct dependence on the health and conditions of maintenance and feeding of productive animals. Feed additives, in turn, are a necessary element in the methods of balancing and optimizing the daily rations of farm animals. Given the importance of this problem, the aim of this work was to determine the effectiveness of a feed additive based on fucus algae on the condition of the studied animals by introducing this additive into the daily ration. The study was conducted in a dairy farm in the Leningrad region, where the diet of dairy cows and their hematologic status, in particular, were investigated. Based on the obtained data it was concluded that the feed additive based on White Sea fucus algae has an effect on the body of dairy cows. From the point of view of clinical blood analysis, it is most noticeable by the indicators of clinical blood analysis characterizing the erythron states (in particular - the level of erythrocytes).

Keywords: biochemistry, feed additive, cattle, diet, hematology, anemia, erythrocytes.

Введение. Основной целью продуктивного животноводства является получение качественной продукции, что имеет прямую зависимость от состояния здоровья и условий содержания [3] и кормления продуктивных животных. Одной из главных задач работников сельскохозяйственной отрасли является обеспечение полноценного и сбалансированного кормления животных. Очень большую роль играет использование кормовых добавок, которые способны скорректировать погрешности в питании, восполнить баланс питательных веществ, обеспечить нормальное функционирование животного в условиях хозяйства и, как следствие, получение максимально качественной продукции животного происхождения. Также не стоит забывать и об экономической составляющей, ведь внедрение кормовых добавок в ежедневный рацион способно снизить риски возникновения болезней, а также финансово оптимизировать процесс кормления животных.

В ходе подготовки к проведению исследования были поставлены следующие **цели:** определить эффективность применения исследуемой добавки относительно некоторых гематологических показателей, установить, положительный или отрицательный эффект несет в себе добавление в рацион кормовой добавки относительно исследуемых параметров. Исходя из указанных выше целей были поставлены следующие **задачи:** отобрать пул голов от общего стада для проведения исследования, подобрать оптимальное дозирование добавки для добавления в ежедневный рацион, отобрать кровь для проведения необходимых анализов, проанализировать и систематизировать полученные результаты.

Материалы и методы. Исследование было проведено в хозяйстве Ленинградской области, специализирующемся на молочном скотоводстве. Для эксперимента по методу пар-аналогов были отобраны 30 голов, клинически здоровых, примерно одинакового возраста и массы тела. 15 коров

были определены в контрольную группу, 15 оставшихся – в опытную. Рацион коров из контрольной группы оставался прежним: сбалансированный комбикорм. В рацион коров из опытной группы была добавлена кормовая добавка на основе фукусных водорослей Белого моря исходя из инструкции относительно массы тела.

Отбор проб крови был произведен дважды: за неделю до начала опыта и спустя месяц после начала подкормки кормовой добавкой. Кровь собиралась вакуумным методом из хвостовой вены, при этом выдерживали 6–8-часовой голод, в пробирки с антикоагулянтом (КЗ ЭДТА). Образцы крови доставлялись в лабораторию в тот же день и подвергались исследованию на анализаторе Dymind DF50 Vet.

Результаты исследований. Достоверно определялось повышение уровня эритроцитов у опытной группы относительно контрольной. Показатели RBC (число эритроцитов): до начала опыта у контрольной группы $5,94 \pm 0,61$, у опытной – $5,82 \pm 0,52$; спустя месяц – у контрольной группы – $6,01 \pm 0,58$, у опытной – $6,3 \pm 0,72$. Также оценивалась морфология эритроцитов в окрашенном по Романовскому – Гимзе мазке крови. До опыта в обеих группах отмечался умеренный анизоцитоз с легким уклоном в сторону микроцитоза, у большей части голов в мазках крови обнаруживались эритроциты со включениями телец Жолли (++) [4]. Спустя месяц в контрольной группе анизоцитоз сохраняется (без улучшений/ухудшений), в опытной группе отмечается снижение выраженности анизоцитоза, выравнивание эритроцитов по размеру в рамках референсных значений и снижение числа эритроцитов со включениями телец Жолли.

Закключение. Из полученных данных можно сделать вывод, что кормовая добавка на основе фукусных водорослей Белого моря оказывает влияние на организм дойных коров. С точки зрения гематологии – выраженное влияние на такой показатель, как число эритроцитов [1, 2]. Учитывая всю важность данного показателя и его роль в обеспечении стабильного функционирования всего организма, можно сделать вывод о положительном аспекте внедрения исследуемой кормовой добавки в ежедневный рацион дойных коров.

Литература

1. *Васильев, Ю. Г.* Ветеринарная клиническая гематология : учеб. пособие (+ DVD-ROM) / Ю. Г. Васильев, Е. И. Трошин, А. И. Любимов. – М. : Лань, 2015. – 656 с.
2. *Васильева, С. В.* Состояние антиоксидантной системы у коров в сухостойный период в зависимости от упитанности / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 80–81.
3. *Карпенко, Л. Ю.* Динамика показателей неспецифической резистентности у КРС в зависимости от физиологического состояния / Л. Ю. Карпенко, А. И. Енукашвили, А. Бахта. – 2011. – Т. 13, № 4–5. – С. 547.
4. *Риган, В.* Атлас ветеринарной гематологии / В. Риган. – М. : Аквариум, 2019. – 321 с.

С. В. Васильева,

кандидат ветеринарных наук, доцент

Л. Ю. Карпенко,

доктор биологических наук, профессор

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

ДИНАМИКА ОБЪЕМА ГРУДНОЙ КЛЕТКИ У НОВОТЕЛЬНЫХ КОРОВ В СВЯЗИ С СОДЕРЖАНИЕМ БЕТА-ГИДРОКСИМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ

Резюме. В статье описываются результаты исследования динамики объема грудной клетки у коров после отела в связи с различной концентрацией бета-гидроксимасляной кислоты в крови. Снижение объема грудной клетки происходит у всех коров независимо от содержания бета-гидроксимасляной кислоты в крови с 1-го по 30-й день лактации на 1,74–3,82 %. Во всех исследуемых группах на 30-й день лактации обнаруживались минимальные значения объема грудной клетки за весь исследуемый период. Концентрация бета-гидроксибутирата в крови в срок 5 и 15 дней после отела имеет сильную положительную взаимосвязь с суммарной потерей объема грудной клетки за первые 30 дней лактации ($r = 0,93$ и $r = 0,96$ соответственно). Содержание бета-гидроксибутирата в крови в срок 5 и 15 дней после отела влияет на скорость восстановления линейных промеров объема грудной клетки у коров с 30-го по 90-й день лактации. У коров с отсутствием кетоза показатели промеров грудной клетки превышают исходный уровень на 1,85 %, с субклиническим кетозом – на 0,3 %, с клинической формой кетоза – не достигают начального показателя на 0,96 %.

Ключевые слова: коровы, упитанность, бета-гидроксимасляная кислота, кетоз, потеря массы, послепереловый период.

Summary. The article describes the results of a study of the dynamics of chest volume in cows after calving due to different concentrations of beta-hydroxybutyric acid in the blood. A decrease in chest volume occurs in all cows, regardless of the content of beta-hydroxybutyric acid in the blood from 1 to 30 days of lactation by 1,74–3,82 %. In all the studied groups, on the 30th day of lactation, the minimum values of chest volume were found for the entire study period. The concentration of beta-hydroxybutyrate in the blood at 5 and 15 days after calving has a strong positive relationship with the total loss of chest volume during the first 30 days of lactation ($r = 0,93$, $r = 0,96$ respectively). The content of beta-hydroxybutyrate in the blood at 5 and 15 days after calving affects the rate of recovery of linear measurements of chest volume in cows from 30 to 90 days of lactation. In cows with the absence of ketosis, the indicators of chest measurements exceed the initial level by 1,85 %, with subclinical ketosis – by 0,3 %, with a clinical form of ketosis – do not reach the initial indicator by 0,96 %.

Key words: cows, fatness, beta-hydroxybutyric acid, ketosis, weight loss, post-calving period.

Введение. Продукция кетоновых тел возрастает у большинства новотельных коров. Степень активации кетогенеза может иметь различный характер: временная компенсаторная мера в первые несколько суток после отела является физиологической нормой, однако при декомпенсации метаболизма выработка кетонов значительно увеличивается, что является следствием нехватки в организме обменной энергии и глюкозы [4]. За этим стоит комплекс факторов – нарушение режима кормления, недостаточное потребление коровой сухого вещества рациона, перекорм концентратами, высокая упитанность и ряд других причин, но все это в совокупности приводит к развитию обменных нарушений, а также к снижению молочной продуктивности и ухудшению воспроизводительных качеств животных [1, 6, 8]. Известно, что в течение первых трех-четырех недель после отела коровы испытывают временный дефицит энергии, что приводит к транзиторной потере массы. Впоследствии энергетический баланс нормализуется и устанавливается равновесие между энергией, потребленной с рационом и затраченной на продукцию, но в начале лактации этот баланс не симметричен ввиду перекаса в сторону катаболизма и мобилизации собственных резервов для обеспечения лактогенеза [2, 9]. В хозяйствах не всегда учитывают упитанность коров и их массу, однако для контроля массы часто используют косвенный метод, который основан не на взвешивании животных, а на измерении объема грудной клетки специальной мерной лентой [3, 5]. Также на сегодняшний день многие ветеринарные специалисты проводят мониторинг содержания бета-гидроксимасляной кислоты (ВНВ) в крови у коров в ранний новотельный период. Это позволяет своевременно выявить кетоз у коров не только в клинической, но и в субклинической форме. В задачу наших исследований вошло изучение динамики объема грудной клетки у коров в послеотельный период в связи с различной концентрацией бета-гидроксимасляной кислоты в крови.

Материалы и методы. Исследование было проведено в животноводческом хозяйстве Ленинградской области. В хозяйстве проводится обязательный мониторинг уровня бета-гидроксibuтирата на 5-й и 15-й день после отела. У коров отбирают кровь из хвостовой вены и сразу исследуют с помощью портативного анализатора FreeStyle Optium. Общепринятой нормой для содержания бета-гидроксимасляной кислоты считается концентрация менее 1,0 ммоль/л, интервал от 1,0 до 2,0 ммоль/л соответствует субклиническому, а свыше 2,0 ммоль/л – клиническому кетозу. На основании результатов исследования было сформировано три группы коров, по 8 голов в каждой (см. табл. 1).

У животных проводили замер объема грудной клетки за лопатками [3] с использованием мерной ленты и магнитного держателя [5] сразу после отела, затем через 15, 30, 60 и 90 дней после отела. Также учитывали

упитанность коров в начале сухостойного периода по пятибалльной шкале BCS [7] (по данным хозяйства).

Таблица 1. Критерии формирования групп

Группа коров	Уровень бета-гидроксимасляной кислоты	Концентрация бета-гидроксимасляной кислоты, ммоль/л	
		на 5-й день после отела	на 15-й день после отела
1	Менее 1,0	$0,64 \pm 0,05$	$0,66 \pm 0,05$
2	От 1,0 до 2,0	$1,64 \pm 0,05$	$1,59 \pm 0,03$
3	Более 2,0	$3,05 \pm 0,15$	$2,56 \pm 0,11$

Результаты исследования. Полученные результаты представлены в табл. 2, 3, 4 и на рисунке.

Таблица 2. Динамика объема грудной клетки коров, см ($M \pm m$)

День исследования	1 группа	2 группа	3 группа
1-й	$204,10 \pm 1,07^*$	$206,00 \pm 0,97^{***}$	$209,40 \pm 1,26^{**}$
15-й	$201,30 \pm 1,427$	$201,80 \pm 1,19$	$205,20 \pm 1,39$
30-й	$200,60 \pm 1,01$	$199,40 \pm 1,10$	$201,70 \pm 1,35$
60-й	$203,90 \pm 0,97^*$	$201,90 \pm 1,66$	$203,10 \pm 1,16$
90-й	$207,90 \pm 0,82^{***}$	$206,60 \pm 0,92^{***}$	$207,40 \pm 1,32^*$

* $P < 0,05$.

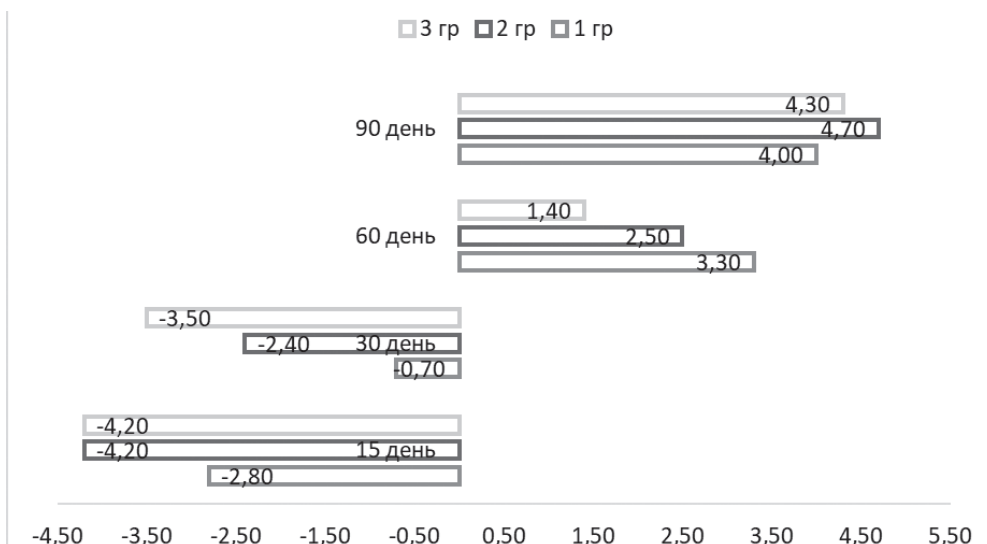
** $P < 0,01$.

*** $P < 0,001$ в сравнении с минимальным значением (на 30-й день).

В соответствии с результатами, приведенными в табл. 2, в начале лактации у всех исследуемых коров прослеживается уменьшение промеров грудной клетки, причем минимальные значения во всех группах выявляются на 30-й день после отела. В дальнейшем к 90-му дню коровы набирают массу, что подтверждается увеличением объема грудной клетки. У коров первой группы результат измерения в конце эксперимента превышает исходное значение, во второй группе – возвращается к исходному, а в третьей – не достигает начального объема.

Рассмотрим интервальные изменения линейных промеров грудной клетки (см. рисунок). Наличие субклинического и клинического кетоза сопряжено с более резким снижением показателя в первые 15 дней после отела.

При исследовании на 30-й день наблюдается минимальный отрицательный прирост объема у здоровых коров, тогда как у коров второй группы интенсивность потери массы снижается как в сравнении с предыдущим интервалом, так и с аналогичным показателем третьей группы. Как показывают полученные результаты, весьма важным этапом в продуктивном цикле коровы является второй месяц лактации. Именно на 60-й день определяется возврат к положительному балансу после периода «энергетиче-



Динамика прироста объема грудной клетки у коров на каждом этапе

ской ямы». Более активный прирост массы выявлен у коров первой группы, а наименьший – у коров третьей группы.

Учитывая то, что на начальном этапе исследования исходные данные объема грудной клетки имеют различия, по крайней мере, между первой и третьей группой, статистически достоверные ($P < 0,05$), то целесообразно для более наглядного представления динамики унифицировать их путем приведения в процентные показатели, приняв все начальные значения за 100 %.

Таблица 3. Изменение объема грудной клетки в % к начальному значению

День исследования	1-я группа	2-я группа	3-я группа
1-й	100,00	100,00	100,00
15-й	98,65 ± 0,26	97,93 ± 0,26	97,97 ± 0,29
30-й	98,35 ± 0,13	96,84 ± 0,26***	96,36 ± 0,30***
60-й	99,88 ± 0,20	98,00 ± 0,33*	96,96 ± 0,23***
90-й	101,85 ± 0,35	100,30 ± 0,20**	99,04 ± 0,18***

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$.

*** $P < 0,001$ при сравнении с группой 1.

Анализируя данные (см. табл. 3), можно утверждать, что коровы с низкими значениями бета-гидроксисимасляной кислоты в крови в наименьшей степени теряют объем грудной клетки в первый месяц лактации. Затем наблюдается довольно высокая скорость прироста живой массы вплоть до

90-го дня. Что касается второй и третьей групп, то у них обнаруживается синхронное снижение показателя с 1-го по 15-й день лактации, более резкое, чем в первой группе. Затем в третьей группе происходит более интенсивная потеря массы, тогда как у второй группы график имеет пологую кривую, которая впоследствии имеет более высокие темпы наращивания в сравнении с группой 3. В конце периода наблюдения у коров первой группы показатели промеров грудной клетки превышают исходный уровень на 1,85 %, во второй группе – на 0,3 %, а в третьей группе не достигают начального показателя на 0,96 %.

В табл. 4 приведены данные по суммарному снижению объема грудной клетки за 30 дней лактации.

Таблица 4. Суммарное снижение объема грудной клетки в первые 30 дней после отела

Группа животных	Разница между промерами грудной клетки на 1-й и 30-й день после отела	
	абсолютные значения, см	относительные значения, %
1	3,50 ± 0,22	1,74 ± 0,11
2	6,60 ± 0,43*	3,32 ± 0,23*
3	7,70 ± 0,50*	3,82 ± 0,26*

* $P < 0,001$ при сравнении с группой 1.

Исходя из значений промеров объема грудной клетки у исследуемых коров, можно отметить, что наименьшая суммарная потеря массы в период отрицательного баланса отмечается у коров первой группы, что соответствует $3,50 \pm 0,22$ см ($1,74 \pm 0,11$ %). У коров с субклиническим и клиническим кетозом объем грудной клетки уменьшается на $6,60 \pm 0,43$ см ($3,32 \pm 0,23$ %) и $7,70 \pm 0,50$ см ($3,82 \pm 0,26$ %) (в обоих случаях $P < 0,001$ в сравнении с показателем первой группы). Проведенный корреляционный анализ показал высокую степень положительной связи между суммарной потерей объема грудной клетки за 30 дней и содержанием ВНВ в крови на 5-й день ($r = 0,93$) и 15-й день ($r = 0,96$).

Известно, что в животноводстве широко используется косвенный метод расчета живой массы по измерению обхвата грудной клетки. Этот метод, безусловно, имеет довольно большую погрешность, однако таблицы пересчета показывают, что шаг в 1 см соответствует массе порядка 7–9 кг. Таким образом, снижение линейных размеров объема грудной клетки у коров третьей группы на 7,7 см чревато потерей массы более 50 кг.

Согласно данным учета коров, которых запускают и переводят в режим сухостойного периода, упитанность по пятибалльной шкале у исследуемых коров составляла $3,50 \pm 0,05$; $3,33 \pm 0,07$ и $4,03 \pm 0,10$ балла у коров 1,

2 и 3 групп соответственно. Учитывая, что оптимальная упитанность для сухостойного периода составляет 3,5–4,0 балла [9], можно предположить, что одним из предрасполагающих факторов к развитию кетоза в раннем новотельном периоде является либо ожирение коров, либо, наоборот, снижение потребления ими сухого вещества рациона в сухостойный период.

Заключение. Снижение объема грудной клетки происходит у всех коров независимо от содержания бета-гидроксимасляной кислоты в крови с 1-го по 30-й день лактации на 1,74–3,82 %. Во всех исследуемых группах на 30-й день лактации обнаруживались минимальные значения объема грудной клетки за весь исследуемый период.

Концентрация бета-гидроксibuтирата в крови в срок 5 и 15 дней после отела имеет сильную положительную взаимосвязь с суммарной потерей объема грудной клетки за первые 30 дней лактации ($r = 0,93$ и $r = 0,96$ соответственно).

Содержание бета-гидроксibuтирата в крови в срок 5 и 15 дней после отела влияет на скорость восстановления линейных промеров объема грудной клетки у коров с 30-го по 90-й день лактации. У коров с отсутствием кетоза показатели промеров грудной клетки превышают исходный уровень на 1,85 %, с субклинической формой – на 0,3 %, с клинической формой кетоза – не достигают начального показателя на 0,96 %.

Литература и источники

1. *Васильева, С. В.* Исследование активности липолиза и глюконеогенеза у новотельных коров при субклиническом и клиническом кетозе / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 217–222. doi:10.52419/issn2072-2419.2022.4.217
2. *Васильева, С. В.* Сравнительное исследование концентрации бета-гидроксимасляной кислоты в крови с содержанием кетонов в моче у новотельных коров с разным уровнем гликемии / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Ветеринария Кубани. – 2022. – № 6. – С. 7–8. doi:10.33861/2071-8020-2022-6-7-8. EDN KVELGZ
3. *Лебедько, Е. Я.* Определение живой массы сельскохозяйственных животных по промерам : практ. руководство / Е. Я. Лебедько. – М. : ООО «Аквариум-Принт», 2006. – 48 с.
4. *Никитина, А. А.* Распространенность и диагностика субклинического кетоза у молочных коров в транзитный период / А. А. Никитина // Материалы 75-й юбилейной Международ. науч. конф. молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной объявленному в 2021 г. Президентом Российской Федерации В. В. Путиным году науки и технологий, Санкт-Петербург, 5–9 апреля 2021 г. – СПб. : Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины, 2021. – С. 159–161.
5. *Устройство для определения живой массы крупного рогатого скота* : патент на полезную модель 203028 U1, Российская Федерация : МПК A01K 13/00, A01K 29/00, A01K 67/00 / Л. Ю. Карпенко, Р. М. Васильев, С. В. Васильева ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский гос. ун-т ветеринарной медицины ФГБОУ ВО СПбГУВМ. – № 2020133076 ; заявл. 07.10.2020 ; опубл. 18.03.2021 // EDN VVBQVK.

6. *Показатели крови у больных кетозом коров* / С. П. Ковалёв [и др.] // Актуальные проблемы инновационного развития животноводства : материалы междунар. науч.-практ. конф., Брянск, 30–31 мая 2019 г. – Брянск : Брянский гос. аграрный ун-т, 2019. – С. 86–89.

7. *Сивкин, Н. В.* Балльная оценка упитанности, молочная продуктивность и биохимические показатели крови у высокопродуктивных коров / Н. В. Сивкин, Г. Г. Карликова, И. В. Гусев // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 8. – С. 75–77.

8. *Ширяев, Г. В.* Оценка применения кормовых добавок при субклиническом кетозе у высокопродуктивных коров / Г. В. Ширяев, Г. С. Никитин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 45–50. doi:10.17238/issn2072-6023.2020.2.45

9. *Vasileva, S. V.* Study of the dynamics of Beta-hydroxybutyrate and hepatospecific markers in the blood of newly calved cows with different body condition / S. V. Vasileva, R. M. Vasilev // Agrosym 2021 : Book of proceedings, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 7–10 октября 2021 г. – Jahorina, Bosnia and Herzegovina : University East Sarajevo, 2021. – P. 1081–1085.

СОДЕРЖАНИЕ

1. ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ

Русинович А. А. Ветеринарная оценка эффективности системы НАССР при производстве мяса и мясопродуктов	3
Юшкова Л. Я., Донченко Н. А., Мельцов И. В. Организация мер для обеспечения безопасности в связи с ликвидацией вспышки особо опасной болезни животных (на примере Иркутской области)	9
Струк М. С. Роль вирусов в этиологии развития вторичных иммунодефицитов молодняка крупного рогатого скота	14
Згировская А. А., Николаевич Л. Н., Тяпша Ю. И., Дубаневич О. В., Герасименко В. И., Дик Е. А., Толяронок Г. Е. Изучение этиологии респираторной патологии молодняка крупного рогатого скота и определение роли в ней респираторно-синцитиального вируса	19
Новикова О. Н., Ананчиков М. А., Мистейко М. М., Зубовская И. В., Бережинская А. А. Клостридиозы крупного рогатого скота	32
Щемелёва Н. Ю., Леонтьева Л. В. К вопросу изучения гельминтофауны молодняка крупного рогатого скота.	37
Пулотов Ф. С., Рахимов М. Ю., Исмоилов А. Ш., Болтаев Д. М., Джалолов А. А. Распространение экто- и эндопаразитов у животных	41
Коваленко П. С., Тюрин В. Г., Потёмкина Н. Н. Активность дератизационных средств в зависимости от препаративных форм их применения	46

2. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Ильина К. Е., Духовский А. А., Шкиль Н. А. Резистентность к антимикробным препаратам энтеротоксигенной <i>Escherichia coli</i> , изолированной от свиней	51
Красникова Е. Л., Притыченко А. Н. Биологический и молекулярно-генетический метод в диагностике болезни Ауески	57
Аникевич Н. Ю., Кучвальский М. В., Притыченко А. Н. Дифференциация микобактерий в полимеразной цепной реакции	66
Зайцев С. Ю., Воронина О. А. Взаимосвязь ряда параметров биохимического состава и межфазной тензиометрии крови свиней	70
Кротова А. О., Спрыгин А. В., Али Мазлум, Шалина К. А., Прутников П. В., Бьядовская О. П. ПЦР с анализом кривых плавления высокого разрешения для дифференциации вакцинного штамма «НИСХИ» и полевых изолятов вируса оспы овец	78
Шалина К. А., Прутников П. В., Губенко О. Г., Кротова А. О., Бьядовская О. П. Клинические и патологоанатомические изменения у животных при оспе овец	87

3. РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Элмуродов Б. А., Алламуродова М. М., Курбонов Ф., Киямова З. Н. Инновационный подход к профилактике заболеваний животных	94
Котегова К. А. Актуальность борьбы с бешенством	97
Бучукури Д. В., Ковалёв Н. А., Борисовец Д. С., Жалдыбин В. В., Курбат И. А., Толяронок Г. Е. Сухая антирабическая вакциносодержащая приманка перорального применения для плотоядных животных	102
Баборенко Е. П., Балахнин Н. Д., Бирюченков Д. А., Фроловцева А. А. Парвовирусная болезнь свиней и ее комплексная профилактика	107
Попова О. С. Проблема антибиотикорезистентности и стратегии ее преодоления	113
Борисовец Д. С., Насонов И. В., Зуйкевич Т. А., Зинина Н. В., Якубовский С. М., Осипенко А. Е. Отработка оптимального способа получения желточных иммуноглобулинов методом гипериммунизации кур.	117
Каримова Н. У., Гоибназаров К. Х., Гафуров А. Г. Способ криоконсервации возбудителя пироплазмоза крупного рогатого скота <i>Piroplasma bigeminum</i>	125
Каримова Н. У., Гафуров А. Г. Эффективность препарата «Имкар-120» при лечении пироплазмоза крупного рогатого скота.	128
Мясцова Т. Я., Щемелёва Н. Ю. Фармако-токсикологическая характеристика противопаразитарного препарата «Эприновет»	131

4. НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

Ришко О. А., Прусаков А. В. Влияние пробиотических кормовых добавок на профилактику неонатальной диареи у молодняка крупного рогатого скота.	140
Кучинский М. П., Кучинская Г. М., Савчук Т. М., Мицук Е. А. Параметры токсичности нового ветеринарного препарата «Микровит SA»	146
Кучинский М. П., Кучинская Г. М., Савчук Т. М., Цыруль Г. П., Азизбеян С. Г. Изучение влияния наночастиц железа, цинка и селена на организм белых крыс в условиях теплового стресса	152

5. ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СВИНЕЙ

Кирюхина Е. А., Герунова Л. К., Герунов В. И. Витамин D и его роль в патогенетической терапии родильного пареза у коров	159
Шинкаревич Н. А., Карпенко Л. Ю., Бахта А. А. Биохимический статус свиней в динамике супоросности.	164
Тургумбеков А. А., Айдарбеков С. Д., Койбагаров К. У., Жадигер Н., Усенбеков Е. С. Опыт использования технологии искусственного осеменения коров в личных подсобных хозяйствах	168
Целуева Н. И., Черных Т. Ф., Шульц А. В., Флисюк Е. В., Коцур Ю. М. Изучение нового противомикробного препарата для лечения маститов животных.	176
Погодаева П. С. Корреляция антигенпрезентирующих клеток молочной железы с концентрацией иммуноглобулинов в плазме крови лактирующих мышей при локальной антигенной стимуляции.	184

6. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОДЕРЖАНИЯ И КОРМЛЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Богданович Д. М., Януть Н. В. Возможность повышения оплодотворяющей способности половых гамет хряков	189
Богданович Д. М. Использование новой среды для разбавления и замораживания спермы хряков	196
Радчиков В. Ф., Кот А. Н., Петрушко Е. В., Приловская Е. И. Возможность и эффективность использования в кормлении телят молока коз, содержащего лактоферрин	203
Кот А. Н., Цай В. П., Глинкова А. М., Сапсалёва Т. Л., Радчиков В. Ф., Бесараб Г. В., Люндышев В. А. Эффективность замещения молока заменителем цельного молока в рационах телят.	210
Кот А. Н., Радчиков В. Ф., Серяков И. С., Петров В. И. Влияние скармливания органического соединения кобальта на пищеварение в рубце и продуктивность молодняка крупного рогатого скота	217
Бесараб Г. В., Радчиков В. Ф., Цай В. П., Сапсалёва Т. Л., Глинкова А. М., Люндышев В. А. Физиологическое состояние и продуктивность бычков при скармливании разных доз карбамидного концентрата.	224
Радчиков В. Ф., Сапсалёва Т. Л., Богданович И. В. Переваримость и использование питательных веществ рациона телятами при скармливании цельного зерна кукурузы.	231
Мудрук С. С., Карпенко Л. Ю. Влияние применения кормовых добавок на основе фукусных водорослей Белого моря на некоторые гематологические показатели коров	237
Васильева С. В., Карпенко Л. Ю. Динамика объема грудной клетки у новотельных коров в связи с содержанием бета-гидроксимасляной кислоты в крови	240

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ
И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
И СВИНЕЙ**

**Материалы Международной научно-практической конференции
Минск, 27 октября 2023 г.**

С о с т а в и т е л ь Жалдыбин Владимир Викторович

Редактор Н. А. Симонова

Художественный редактор Д. А. Комлев

Технический редактор М. В. Савицкая

Компьютерная верстка С. Н. Костюк, И. В. Счеснюк

Подписано в печать 06.10.2023. Формат 70×100¹/₁₆. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 20,31. Уч.-изд. л. 14,5. Тираж 100 экз. Заказ 224.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя
печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013, № 2/196 от 05.04.2017.
Ул. Ф. Скорины, 40, 220084, г. Минск